Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie
der Universität des Saarlandes, Homburg (Saar)
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. Dipl. Chem. W. Zimmermann

Untersuchungen zur Beeinflussung der Komplement-Aktivitäten durch Nierengewebe und zum Verhalten des Komplement-Systems bei der Pyelonephritis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes

vorgelegt von

Ulf-W. Tunn

1968

Dekan: Prof. Dr. med. F. Loew
Referent: Prof. Dr. med., Dr. phil., Dipl.-Chem. W. Zimmermann
Coreferent: Prof. Dr. med. C. E. Alken

Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie
der Universität des Saarlandes, Homburg (Saar)
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. Dipl. Chem. W. Zimmermann

Untersuchungen zur Beeinflussung der Komplement-Aktivitäten durch Nierengewebe und zum Verhalten des Komplement-Systems bei der Pyelonephritis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes

vorgelegt von

Ulf-W. Tunn

Dekan: Prof. Dr. med. F. Loew
Referent: Prof. Dr. med., Dr. phil., Dipl.-Chem. W. Zimmermann
Coreferent: Prof. Dr. med. C. E. Alken

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 25. April 1968 abgelegt.

MEINER FRAU GEWIDMET

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

I N H A L T

	Seite
A. Einleitung	2
B. Material und Methode	23
1.Titration von Gesamt-C' und C'-Komponenten	23
2.Herstellung von C'-Intermediärprodukten	39
3.Herstellung von Organhomogenaten und lebenden Zellsuspensionen	41
4.Versuchsansätze zur Bestimmung antikomplementärer Effekte von Organhomogenaten, Zellsuspensionen und Zellkulturen	43
5.Gewinnung von prärenalem und postrenalem Blut	47
6.Tierexperimentelle Str.faecalis-Pyelonephritis	48
7.Patientengut	51
C. Ergebnisse	52
1.Ergebnisse der einleitenden Versuche zur Aufstellung einer reproduzierbaren Methode der C'-Titration	52
2.Untersuchungen mit Nierenhomogenaten und anderen Organhomogenaten	61
3.Untersuchungen mit lebenden Nierenzellen und Leberzellen und Nierenzellkulturen	69
4.Prärenale und postrenale C'-Titer	73
5.C'-Titerverlauf bei der Str.faecalis-Pyelonephritis der Ratte	75
6.C'-Titer bei Patienten mit chronischer Pyelonephritis und Kontrollpersonen	83
D. Diskussion der Ergebnisse	90
E. Zusammenfassung	113
F. Schrifttum	116
	125
Lebenslauf	126

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552721_0060

A. EINLEITUNG

Um die Jahrhundertwende beobachteten PFEIFFER (1896) und andere Autoren (BUCHNER 1900, BORDET 1898, EHRLICH und MORGENROTH 1899, 1900) in der Peritonealhöhle eines Tieres und im Reagenzglas die Auflösung von Choleravibrionen, Bakterien und roten Blutkörperchen. EHRLICH und MORGENROTH (1899, 1900) wiesen auf die Analogie dieser Vorgänge hin und legten die Grundzüge der Mechanismen dar, die zu diesen Auflösungserscheinungen führten. In einer ersten Aktion wird von den Erythrocyten ein spezifischer durch Immunisierung erworbener Antikörper seiner Lösungsflüssigkeit entzogen und mit seiner spezifischen haptophoren Gruppe mit den Receptoren verbunden. Die zweite haptophore Gruppe des widerstandsfähigen Immunkörpers - auch Amboceptor = Zweifasser genannt - verankert ihrerseits in dem zweiten Teil der Reaktion eine thermolabile im normalen Serum enthaltene Substanz, die für die eigentliche lytische Aktivität frischer Seren verantwortlich ist. Dieses lysierende System, dessen Aktion durch den Immunkörper als Bindeglied auf die Ausgangsstoffe übertragen wird, wurde zunächst Addiment und später Komplement (complere: ergänzen) genannt. Die schematische Darstellung von EHRLICH und MORGENROTH über das Zusammenwirken von Antikörper und Komplement ist in Abb. 1 wiedergegeben.

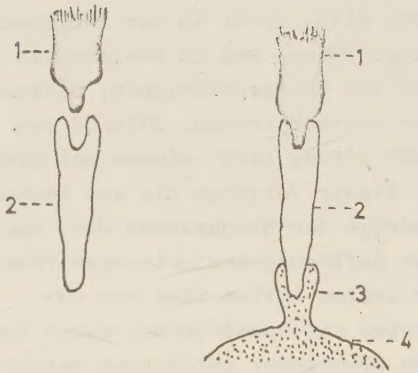


Abb. 1 Schematische Darstellung über das Zusammenwirken von spezifischem Immunkörper und Komplement in der Vorstellung von EHRLICH und MORGENROTH (Berl. Klin.Wschr. 37 (1900), 681). 1 = Komplement; 2 = Immunkörper; 3 = Receptor; 4 = Teil einer Zelle.

In der Folgezeit wurde die Uneinheitlichkeit des Komplements erkannt. Nachdem BUCHNER (1889) den Verlust der bakteriziden Kraft von Serum, das gegen Aqua dest. dialysiert worden war, beobachtet hatte, ohne hierfür eine andere Erklärung als durch die Dialyse bedingten Salzverlust des Serums zu finden, zeigte FERRATA (1907), daß die nach Dialyse des Serums erhaltenen beiden Fraktionen (die in Lösung verbliebene und die präcipitierte) zwar jeweils alleine nicht mehr hämolytisch aktiv waren, jedoch nach dem Zusammenfügen wieder mit Antikörper beladene Erythrocyten zu lysieren vermochten. Aus diesem Verhalten schloss FERRATA auf das Vorhandensein zweier Komplement-Komponenten, die er M i t t e l s t ü c k und E n d s t ü ck nannte. Beide Komponenten wurden durch Hitze (55°C) zerstört.

Bei ihren Untersuchungen über die zerstörende Wirkung von Kobragift auf die hämolytische Serumaktivität erkannten RITZ (1912) sowie SACHS und OMOROKOW (1911), daß auch Mittel- und Endstück nicht einheitlicher, sondern komplexer Natur waren. RITZ konnte die Thermostabilität (bei 54°C) der durch Kobragift inaktivierten Komplement-Komponenten nachweisen, die er als d r i t t e Komponente bezeichnete. Eine durch Kobragift identische Inaktivierung gelang COCA 1914 mit Hefe. GORDON, WHITEHEAD und WORMALL konnten 1926 eine weitere differente thermostabile Komponente finden - die v i e r t e Komponente - die isoliert durch Ammoniumsalze, durch primäre

Amine, sowie durch Äther und Chloroform zerstört werden konnte. Im Mittel- bzw. Endstück fand man die thermolabile erste bzw. zweite Komplement-Komponente.

HEGEDÜS und GREINER (1938) postulierten, daß der Wirkungsgrad der lytischen Komplement-Aktivität von den in geringster Menge vorhandenen Komplement-Komponenten abhängig ist. Auf dieser Überlegung basiert die Austitration von Komplement-Komponenten mit Komplement-Systemen, die bis auf eine einzige Komponente alle anderen in hohen Titern enthalten, so daß durch Zugabe dieser gesamtlytisch defekten Komplement-Systeme zu einem Probandenserum der ermittelte Komplement-Titer des Probandenserums gleich dem Komplement-Titer der im defekten Komplement-System fehlenden Komponenten ist.

In der amerikanischen Literatur wurde in der Folgezeit die Bezeichnung C' für Komplement eingeführt. Nach dem Vorschlag von BIER und Mitarbeitern (1965) wurden die C-Systeme, bei denen eine Komponente zerstört wurde, R-S e r e n (R=removed) genannt. Ein Serum, in dem die erste Komponente fehlt, ist folglich ein R 1-Serum und kann für die Titration der ersten Komponente verwendet werden; ein Serum mit fehlender zweiten Komponente wird als R 2-Serum bezeichnet etc. Die einzelnen Komponenten erhielten die entsprechenden Symbole C'1, C'2, C'3 und C'4, wobei C'1 bzw. C'2 nur im Mittel- bzw. Endstück enthalten sind, während C'3 bzw. C'4 die dritte bzw. vierte Komponente

darstellen. Nach der zeitlichen Reihenfolge ihrer Entdeckung erhielten die C'-Komponenten also ihre ziffernmäßige Benennung.

In n e u e s t e r Zeit wurde mehrfach über die komplexe Natur von C'1 und C'3 berichtet, RAPP (1958); TAYLOR, LEON (1961); NISHIOKA, LINSCOTT (1963). Bis heute ließen sich drei Untereinheiten von C'1 und sechs Untereinheiten von C'3 erkennen (LEPOW et al. (1965); NELSON (1965); KLEIN (1965); MÜLLER-EBERHARD (1965), wobei letztere von verschiedenen Laboratorien unterschiedlich bezeichnet wurden. In Tabelle 1 sind die Bezeichnungen der einzelnen C'-Aktivitäten nebeneinander angegeben. Ausserdem sind die Bezeichnungen der Autoren aufgeführt, die erstmals die multiple Natur der C'3-Aktivität aufzeigten und bezeichneten, deren "Einzelkomponenten" in heutiger Sicht aber jeweils mehrere Aktivitäten umfassten.+)

Nachdem HEIDELBERGER (1946) mit Hilfe von Stickstoffbestimmungen die Proteinnatur des C' aufzeigte, lassen sich heute mit neu entwickelten Proteinauftrennverfahren einige P r o t e i n f r a k t i o n e n mit jeweils einer C'- K o m p o n e n t e n - A k t i v i t ä t herstellen (MÜLLER-EBERHARD (1965)). Die Mehrzahl der C'-Komponenten läßt sich jedoch nur indirekt durch selektive Aktivitätenzerstörung mit bestimmten Schädigungs-

---

+) In dieser Arbeit wird die Nomenklatur nach KLEIN verwendet (falls nicht anders vermerkt).

Tabelle 1 Vergleich der Bezeichnung der C'-Komponenten bei verschiedenen Autoren

KLEIN, P.	MÜLLER-EBERHARD, H.J.	NELSON, R.A.	LINSCOTT, W., NISHIOKA, K.	TAYLOR, A., LEON, M.A.	RAPP, H.J.
1965/66	1965/66	1965/66	1963	1961	1958
C'1q	C'11S	C'1q	C'1	C'1	C'1
C'1r	C'1r	C'1r			
C'1s	C'1s	C'1s			
C'4	C'4	C'4	C'4	C'4	C'4
C'2	C'2	C'2	C'2	C'2	C'2
C'3a	C'3	C'3c	C'3c		
C'3b	C'5	C'3b			
C'3α	C'6	C'3e	C'3b[1]	C'3a[2]	C'3a[3]
C'3β	C'7	C'3f			C'3b[4]
C'3c	C'8	C'3a	C'3a	C'3b	
C'3d	C'T, bzw. C'9	C'3d	C'3d	C'3c	

1) entspricht nach heutigen Befunden der Summe von C'5, C'6, C'7*

2) entspricht nach heutigen Befunden der Summe von C'3, C'5, C'6, C'7*

3) entspricht der Summe von C'3, C'8*

4) entspricht der Summe von C'5, C'6, C'7, C'9*

(* nach der Nomenklatur von MÜLLER-EBERHARD)

agentien charakterisieren.

Tabelle 2 gibt einen Überblick über die bisherigen Charakterisierungsmöglichkeiten von C'-Komponenten, einerseits durch in vitro-Inaktivierungsverfahren, andererseits durch Abklären ihrer proteinchemischen Natur (elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit, Sedimentationskonstante, immunochemisches Verhalten).

Tabelle 2 Charakteristiken der neun C'-Komponenten

(Zusammengestellt nach NELSON (1965); MAYER (1961); MÜLLER-EBERHARD (1965); LINSCOTT, NISHIOKA (1963); INOUE, NELSON (1965;1966); KLEIN (1965); WELLENSIEK (1963); NAFF, PENSKY, LEPOW (1964); LEON (1965).)

C'-Aktivität	in vitro inaktivierbar durch	elektroph. Wanderung	immunch. Verhalten	Sed. Konst.
C'1	Carrageen[1]			18,0 S
C'1q (=C'11S)	Carrageen	γ		11.1 S
C'1r				7.0 S
C'1s	natürl.C'-Esteraseinhibitor; aktiviertes C'1s durch DFP[2]	α		4.0 S
C'4	primäre Amine (Hydrazin,Ammoniak); Äther	$\beta_1 - \alpha_2$	β_{1E}	10.0 S
C'2	PHMB[3];akt. C'2 durch Phlorizin	β		5.7 S
C'3a	Hydrazin;Cobratoxin;Zymosan[4] Glutamyl-L-Tyrosin	$\beta_2 - \beta_1$	β_{1C}	9.5 S
C'3b	Cobratoxin;Zymosan;Glutamyl-L-Tyrosin	$\beta_1 - \alpha_2$	β_{1F}	8.5 S
C'3α		$\gamma - \beta$		5.7 S
C'3β	Trypsin; zu 70 % durch Zymosan	β		5.0 S
C'3c	Hitze (56°C) bei p_H 6.5;natürl. Inhibitor	β		8.2 S
C'3d	EDTA[5]	α_2		4.5 S

[1] getrockn. nordatl. Rotalgen (Hauptbest.: Sulfate; Polysaccharidkomplexe)

[2] Di-iso-propyl-fluoro-phosphat

[3] p-Hydroxymercuribenzoat

[4] Polysaccharid der Hefe

[5] Äthylen-diamino-tetra-acetat

Die Reaktionssequenz der einzelnen C'-Komponenten wurde am Beispiel der Immunhämolyse erforscht.

Vereinfachend dargestellt, kommt es zunächst zu einer Anlagerung von C'1 an den mit Antikörpern beladenen Erythrocyten (EA). Anschließend reagieren C'4, C'2 und die C'3-Komponenten an der Erythrocytenmembran, so daß sich folgendes Reaktionsscheme ergibt:

$$\xrightarrow[Ca^{++}]{C'1} EAC'1 \xrightarrow{C'4} EAC'1,4 \xrightarrow[Mg^{++}]{C'2} EAC'1,4,2 \xrightarrow{C'3} E^{*} \rightarrow \text{E-Stromata+Hämoglo}$$

E^{*} steht dabei als Symbol für einen Erythrocyten mit irreversiblem Membrandefekt.

Heute ermöglichen Befunde neuerer Untersuchungen eine exaktere Darstellung der Reaktionsreihenfolge der C'-Komponenten:

Zunächst transformiert ein Erythrocyt (E), der nach BORSOS und Mitarbeitern (1962, 1964, 1965) nur mit einem 19 S-Anti-E-Antikörper beladen zu sein braucht, C'1 mit seinen drei Subkomponenten bei Ca^{++}-Anwesenheit aus der flüssigen Phase des Serums an die Zellmembran (NAFF et al. (1964); LEPOW et al. (1963, 1965); KLEIN and BURKHOLDER (1960); MAYER (1961); MÜLLER-EBERHARD and KUNKEL (1961); BECKER (1960); BORSOS and MAYER (1962); BORSOS and RAPP (1965)). Das dabei entstehende Intermediärprodukt wird dementsprechend als EAC'1q,r,s bezeichnet. Da C'1s in diesem Zustand als Esterase enzymatisch aktiv ist, wird für dieses Intermediärprodukt auch die Bezeichnung C'1a (a=aktiv)

verwendet. Die C'-Esterase C'1s wirkt auf zwei Globuline, nämlich C'4 und C'2 (MÜLLER-EBERHARD (1965); NELSON (1965). Zunächst werden dabei β_{1E}-Globuline (=C'4-Moleküle) derart verändert, daß sie sich direkt an die Zellmembran anlagern können (MAYER, 1963). Weiterhin sind C'2-Globuline nach Kontakt mit der Esterase C'1s befähigt, sich mit dem an der E-Membran sitzenden C'4 zu einem Komplex zu verbinden (MAYER et al., 1963, 1965); MÜLLER-EBERHARD, 1965). Das sich nach dieser Reaktion ergebende Intermediärprodukt wird mit dem Symbol EAC'1,4,2 bzw. EAC'1,4,2a bezeichnet, um den aktiven Zustand des zellulär fixierten C'2 gegenüber dem nicht aktiven sich im Serum befindlichen C'2 zu kennzeichnen. EAC'1,4,2a ist kein stabiles Intermediärprodukt, sondern zerfällt wiederum in EAC'1,4-Zellen wegen des Zerfalls von C'2a in inaktives, nicht mehr reaktionsfähiges C'2i (MAYER et al, 1954, 1961, 1965). Zusätzlich entsteht C'2i aus denjenigen C'2-Globulinen, die zwar durch C'1s zellbindungsfähig gemacht wurden, sich aber nicht an der Zellmembran fixieren konnten (MAYER,1965). Durch die Überführung eines großen Teils von C'2a in das nicht reaktionsfähige C'2i wird in vivo eine Ausbreitung von C'2a auf hämatogenem Weg verhindert.

Zellulär fixiertes C'2a wirkt enzymatisch und bringt β_{1C}-Globuline (=C'3a) zur Anlagerung an Receptoren der Zelloberfläche

(NILSSON and MÜLLER-EBERHARD, 1965); MÜLLER-EBERHARD, DALMASSO, CALCOTT, 1966), wodurch das als EAC'1,4,2,3aa zu bezeichnende Intermediärprodukt entsteht. β_{1C}-Globuline, die in bindungsfähigem Zustand nach Reaktion mit C'2a nicht mit der Zellmembran kollidieren, werden in einen inaktiven Zustand überführt, der auch in einer Änderung ihres immunlektrophoretischen Verhaltens Ausdruck findet (LINSCOTT, COCHRANE, 1964); MÜLLER-EBERHARD, CALCOTT, MARDINEY, 1964); CARPENTER, GILL, 1966).

Die genaueren physikochemischen Vorgänge an der Zellmembran bei den nun folgenden Reaktionsschritten der C'3-Komponenten sind noch nicht bekannt. Lediglich ihre Reaktionsreihenfolge ist ermittelt. Dabei entstehen nach jedem Reaktionsschritt Intermediärprodukte mit unterschiedlicher Stabilität (siehe Tabelle 3).

In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß die Mehrzahl der Autoren (NELSON, 1965; INOUE, 1965, 1966; LINSCOTT, NISHIOKA, 1963; KLEIN und WELLENSIEK (1965); HEIDELBERGER und Mitarb. (1958) C'3 im klassischen Sinne als das im frischen Serum befindliche Agens definieren, das EAC'1,4,2-Zellen lysiert. Entsprechend werden die C'-Proteine, die nach Entstehen von EAC'1,4,2-Zellen bis zur terminalen Reaktion des C'-Systems reagieren, in ihren Aktivitäten als Untereinheiten des C'3-Komplexes aufgefasst. MÜLLER-EBERHARD und Mitarbeiter dagegen geben auch diesen C'-Proteinen fortlaufende ziffernmäßige Benennung (s. Tab. 1).

Tabelle 3 Halbwertszeiten der während der Immunhämolyse anfallenden Intermediärprodukte in Gelatine-Veronal-Puffer

(Nach NELSON (1965); INOUE and NELSON (1965/66); LINSCOTT and NISHIOKA (1963); MAYER (1961).)

Reaktionsschritt	Reagentien	Intermediärprodukte	Halbwertszeiten
1	E + A	EA	stabil
2	+ C'1q,r,s	EAC'1q,r,s	stabil
3	+ C'4	EAC'1 act.,4	stabil
4	+ C'2	EAC'1 act.,4,2 act.	8-10 Min. bei 37° C; 28 Min. bei 30° C
5	+ C'3a	EAC'1,4,2,3a	16 Min. bei 30° C
6	+ C'3b	EAC'1,4,2,3a,3b	16 Min. bei 30° C
7	+ C'3α	EAC'1,4,2,3a,3b,3α	75 Min. bei 30° C
8	+ C'3β	EAC'1,4,2,3a,3b,3α, 3β	330 Min. bei 30° C
9	+ C'3c	EAC'1,4,2,3a,3b,3α, 3β,3c	stabil
10	+ C'3d	E*	osmotische Abhängigkeit

Als Produkt der C'-Terminalreaktion ergibt sich als primäre Defektstelle ein "Loch" innerhalb der Zellmembran. (GREEN, BARROW, GOLDBERG (1959); GREEN et Al. (1959). Daraus resultiert der Verlust der osmotischen Kontrolle der Zelle. In isotonischen Medien kommt es zur Lyse der Zelle. Erhöhung des osmotischen Drucks der Aussenflüssigkeit, z.B. mit 25%iger Rinder-Plasma-Albumin-Lösung, kann die endgültige Zellyse trotz des durch C' bedingten Membrandefektes verhindern (FRANK, RAPP, BORSOS (1965). Die primären Defektstellen an E*-Membranen konnten elektronenoptisch von BORSOS, DOURMASHKIN und HUMPHREY (1964) als kraterförmige Vertiefungen mit Durchmessern von ca. 80 Å in den Membranen sichtbar gemacht werden.

Ungeklärt ist, ob das Substrat, das in der terminalen C'-Reaktion entsteht, a l l e i n zellmembranschädigend wirkt oder erst mit einem anderen spezifischen Substrat (Serumprotein und/oder Zellmembranbestandteil) z u s a m m e n das lytische Agens produziert. FISCHER und Mitarb. (1961; 1963) fanden als Endprodukt der C'-Reaktionssequenz ein Lysolecithin. Ein zuletzt agierendes C'-Protein soll dabei als Lecithinase mit einer C'-Komponenten, die Lecithin enthält,

---

"a" wird unterschiedlich angewendet: einerseits, um einen enzymatisch aktiven Zustand eines C'-Proteins aufzuzeigen, andererseits zur Bezeichnung einer C'3-Komponenten, unabhängig von ihrem Zustand. Ein enzymatisch aktives C'3a muss also korrekterweise als C'3aa bezeichnet werden

zellunabhängig die Bildung eines grenzflächenaktiven Lysolecithins hervorrufen. Diese Hypothese ist jedoch nicht unwidersprochen geblieben (PHILLIPS, MIDDLETON (1965). Auch die nicht immunologische Aktivierung des C'-Systems ist diskutiert worden (SHIZAKA (1959); KELLER (1964); HAUPT, FISCHER (1961).

In Abb. 2 ist die Reaktionsreihenfolge der einzelnen C'-Komponenten bei der Immunhämolyse unter Berücksichtigung neuerer Erkenntnisse zusammenfassend schematisch dargestellt.

Die am Beispiel der Immunhämolyse aufgezeigten Gesetzmäßigkeiten der C'-Reaktion sind auch dann zutreffend, wenn als Objekte des C'-Systems andere Antigen-Antikörper-Komplexe als mit Antikörpern beladene Erythrocyten anfallen. Es ließ sich zeigen, daß jeweils mit homologen Antikörpern beladene Bakterien (OSAWA (1964); MUSCHEL (1965); ROTHER et al. (1964); INOUE et al. (1959); MUSCHEL, JAKSON (1963); MUDD et al. (1965)), Treponemen (NELSON, MAYER (1949)), Leptospiren (JOHNSON, MUSCHEL (1966)), Tumorzellen (GREEN et al. (1959)); FISCHER, HAUPT (1961, 1965); Hela-Zellen (BJÖRKLUND (1960)) und Amnion-Zellen (ROSS, LEPOW (1960)) nach Reaktion a l l e r C'-Komponenten jeweils irreversibel geschädigt wurden.

Der terminale membranschädigende Effekt ist jedoch nicht die einzige Wirkung des C'-Systems. Bereits nach der Reaktion von C'3a im 5.Schritt der C'-Reaktionssequenz wird die Zellmembran verändert. EAC'1,4,2,3a-Zellen besitzen die

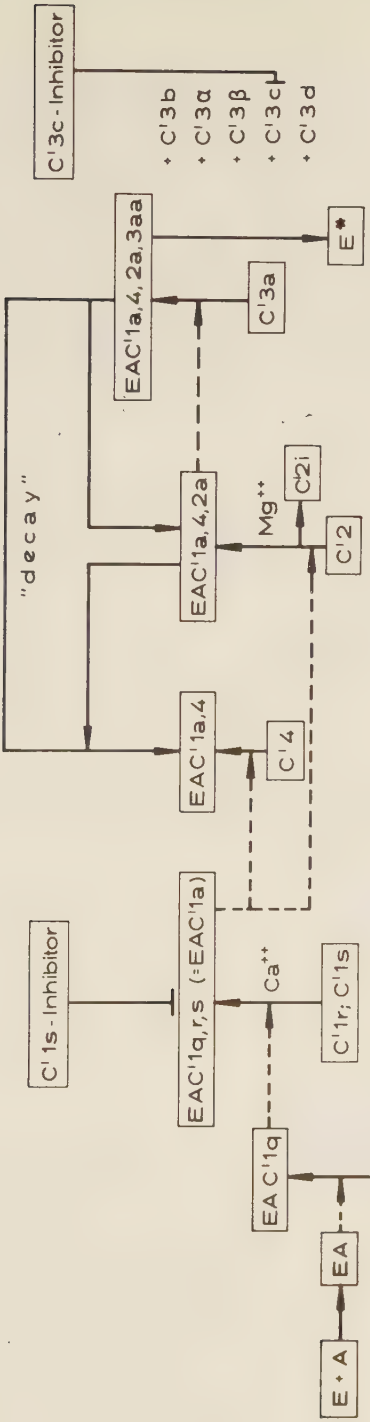


Abb. 2 Reaktionsreihenfolge der einzelnen C'-Komponenten bei der Immunhämolyse

Fähigkeit zur sogen. Immunadhärenz (NELSON (1962/66)); NISHIOKA, LINSCOTT (1963)). Derart veränderte Zellen werden auch in hohem Maße phagocytiert (NELSON(1965)), BENACERRAF et al. (1959)). Nach Aktion von sieben C'-Komponenten entsteht in vivo und in vitro ein chemotaktisches Substrat für polymorphkernige Granulocyten, wobei der trimolekulare C'3b,α,β-Komplex diese Wirkung hervorruft (WARD, COCHRANE, MÜLLER-EBERHARD (1965, 1966)). Entsprechend zeigen Kaninchen mit defektem C'3α in vitro erst dann chemotaktische Aktivität, wenn dieser Defekt durch Zugabe von Proteinen mit C'3α - Aktivität kompensiert wird (WARD, CHOCHRANE (1965)).

Nicht unerheblich ist auch die Rolle, die dem C'-System bei der Freisetzung von permeabilitätserhöhenden Faktoren zukommt. Für die Freisetzung von Anaphylatoxin wird sowohl die C'1-Esterase (RATNOFF, LEPOW (1963); DONALDSON, EVANS (1963)) als auch C'3b verantwortlich gemacht (JENSSEN (1966)).

Eine zusammenfassende schematische Darstellung dieser bisher erkannten, im Verlauf der Reaktionssequenz auftretenden Wirkungen des C'-Systems gibt Tabelle 4.

Die i m m u n p a t h o l o g i s c h e Bedeutung des C'-Systems konnte besonders durch tierexperimentelle Studien bei der Glomerulonephritis (GN) und beim ARTHUS-Phänomen aufgezeigt werden. Bei beiden pathologischen Ereignissen treten dabei in den Grundmechanismen analoge Reaktionen auf: Ein zellwandständiger Antigen-

Tabelle 4 Schematische Darstellung der im Reaktionsablauf des C'-Systems auftretenden Wirkungen

(Zusammengestellt nach Befunden von RATNOFF, LEPOW (1963); NELSON (1962,1965); BENECERRAF et al. (1959); JENSSEN (1966); WARD, COCHRANE, MÜLLER-EBERHARD (1965,1966); GREEN, GOLDBERG et al. (1959); ROTHER et al. (1964); INOUE et al. (1959); MUSCHEL et al. (1963); NELSON, MAYER (1949).)

Reaktionsschritt	reagierende C'-Aktivitäten	resultierende C'-Effekte	
1	Antigen - Antikörper		
2 a,b	+ C'1q,r	keine morphologischen Zellwandänderungen	
2 c	+ C'1s		Anaphylatoxinfreisetzung
3	+ C'4		
4	+ C'2		
5	+ C'3a	Opsonisierung, Immunadhärenz, Immunclearence	
6	+ C'3b	Anaphylatoxinfreisetzung	
7	+ C'3α	Entstehung eines chemotaktischen Substrates	
8	+ C'3β		
9	+ C'3c		
10	+ C'3d	Zellmembranschädigung (Cytolyse, Hämolyse, Bakteriolyse, Leptospirolyse, Treponemenimmobilisation)	

Antikörper-Komplex (SARRE, ROTHER (1957)) aktiviert das C'-System und führt zu zellulärer Fixation seiner Komponenten. Im Gefolge dieser Reaktionen kommt es zu einer gezielten Wanderung und Akkumulation von polymorphkernigen Granulocyten in diesem Zellgebiet und schließlich zur Freisetzung zellschädigender Substrate (COCHRANE (1965)). Der Nachweis der C'-Beteiligung bei solchen immunpathologischen Prozessen konte sowohl direkt histologisch mit Fluorescein-markierten Anti-C'-Antikörpern als auch indirekt durch einen Abfall des C'-Titers im peripheren Serum erbracht werden (CHOCHRANE (1965); SCHÄFER (1965); LACHMANN et al. (1962); UNANUE, DIXON (1964)). Auch ließ sich bei Tieren mit hereditärem C'3α (=C'6)-Defekt infolge Blockierung der C'-Reaktionssequenz die ARTHUS-Reaktion nicht auslösen (ROTHER et al. (1964)). Auch bei Patienten mit Glomerulonephritis waren die C'-Titer im akuten Stadium erniedrigt (SCHÄFER (1965)), im chronischen dagegen teils im Bereich der Norm gehalten teils erniedrigt (WEST et al. (1965)), weshalb WEST u. Mitarb. zwischen einer hypokomplementämischen und normokomplementämischen chronischen GN unterscheiden, die sich zwar in ihrem klinischen Erscheinungsbild überschneiden, während sie sich histopathologisch differenzieren lassen.

In der Ätiologie der chronischen Pyelonephritis ist das C'-System bisher nur wenig beachtet worden. Fast ausschließlich ist der Hauptblickpunkt in Untersuchungen über das pathophysiologische Verhalten der immunbiologischen Abwehr bei der bakteriellen chronischen

Pyelonephritis (=PN) auf die Antikörperbildung gelegt worden. Vorhandene Antikörper bei einer unkomplizierten PN werden dabei einem curativen Effekt gleichgestellt. Es ist jedoch nicht möglich, allein aus dem Vorhandensein von spezifischen Antikörpern Rückschlüsse auf den Zustand der humoralen Abwehr des Wirtsorganismus gegenüber bakteriellen Erregern zu ziehen. Nach dem heutigen Wissen über immunbiologische Abwehrsysteme nehmen die spezifischen Antikörper vielmehr eine Mediatorstellung ein. Sie ermitteln das Objekt, gegen das sich die oben beschriebenen unspezifischen humoralen und zellulären Abwehrelemente richten, die die "Fremdproteine" beseitigen und abtöten, jedoch bei einer unkontrollierten überschießenden Reaktion auch eigene Gewebe schädigen.

Erst die Kenntnis über den Zustand der spezifischen und unspezifischen Abwehrelemente lässt exakte Aussagen über die Kraft der humoralen Wirtsabwehr zu. Die Fähigkeit von Mikroorganismen, unter natürlichen Infektionsbedingungen eine Bildung von homologen Antikörpern zu stimulieren, kann dabei als ein Kriterium ihrer aktuellen klinischen Pathogenität angesehen werden. Der Nachweis von spezifischen Serumantikörpern bei Patienten mit Harnwegsinfektion gegen Keime, die aus Urinproben gezüchtet werden, ermöglicht, pathogenetisch bedeutsame Keime von der sogenannten Kontaminationsflora abzugrenzen. Somit kommt den bakteriellen Antikörpern größere Bedeutung zu für die Diagnostik pathogener Keime als für die

Beurteilung über das effektive Kräfteverhältnis von Wirtsorganismus zu "Parasit".

Nur wenige Autoren, die das Verhalten der Wirtsabwehr bei der PN und die Reaktionslage des Nierengewebes untersuchen, berücksichtigen überhaupt das C'-System. Nach BEESON und ROWLEY (1959) sollen im Nierengewebe starke antikomplementäre Effekte bestehen, da Nierenzellhomogenate nach in vitro-Inkubation mit C' die gesamtlytische Aktivität und die Serumbakterizidie vermindern. Dabei soll Ammoniak, das in der Tubuluszelle aus Glutamin nach Desaminierung durch Glutaminasewirkung im Sinne eines Baseneinsparmechanismus entsteht, C'4 inaktivieren, wodurch die gesamtlytische Aktivität limitiert wird, was die erhöhte Infektanfälligkeit der Niere verursachen soll. Andererseits ist jedoch die Niere in besonderem Maße durchspült von allen natürlichen und durch Immunisierung erworbenen Abwehrstoffen des Blutes (KUNIN (1962)). KALMANSON und GUZE (1963) machten für die Pathogenese der chronischen PN "Protoplasten" verantwortlich. Bei den Protoplasten handelt es sich um osmotisch labile Bakterien, die ihre Zellwand teilweise oder ganz verloren haben und bei denen nun die Cytoplasmamembran die äussere Zellstruktur darstellt. Die Zerstörung der bakteriellen Zellwand soll dabei durch das Antikörper-C'-System verursacht werden. Jedoch ist es den Bakterien im hypertonen Milieu der Niere möglich, auch ohne Zellwand zu überleben. Den direkten Nachweis von zellulär fixierten C'-Komponenten

am bioptischen Nierenmaterial von Patienten mit chronischer PN erbrachten LACHMANN, MÜLLER-EBERHARD u. Mitarb. (1962) mit Hilfe der Fluorescenztechnik. Zur Darstellung zellulär fixierter C'-Komponenten, deren Vorhandensein immer auf anatomische Läsionen, bedingt durch immunologische Traumen, schließen lässt, benutzten sie Fluorescein markierte anti-β_{1C}-Globuline, die - wie sich später herausstellte - zusätzlich noch anti-β_{1F} - und anti-C'3α -Globuline enthielten, sonst aber keine Verunreinigungen aufwiesen (1966).

Alle Autoren betonen also die Bedeutung des C'-Systems für die Pathogenese der PN, einmal auf Grund seiner limitierten Aktivität durch in der Niere entstehende anti-C'-Faktoren (BEESON, ROWLEY (1959)), zum anderen auf Grund seiner u n e i n g e s c h r ä n k t e n Aktivität, die zu zellulären Läsionen (Lachmann (1962)) und zu Protoplastenbildung im Nierenparenchym führen (KALMANSON, GUZE (1963)).

Es erschien deshalb von Interesse, das Verhalten von C' der normalen Niere gegenüber und bei der Pyelonephritis zu untersuchen, um Einblicke in die Bedeutung des C'-Systems bei der chronischen Pyelonephritis zu gewinnen.

B. MATERIAL UND METHODE

1. Titration von Gesamt-C' und C'-Komponenten

Bei der Bestimmung des Gesamt-C'-Titers wird im Prinzip festgestellt, in welchem Ausmaß ein Serum Antikörper beladene Erythrocyten (EA) zu lysieren vermag. Die hämolytische Kraft eines Serums wird dabei ausgedrückt in 50%-Hämolyse-Einheiten (C'H50), wobei C'H50 diejenige Menge C' darstellt, die 50% einer bestimmten Anzahl optimal sensibilisierter E unter sonst konstanten Bedingungen (Reaktionsmilieu, Reaktionsvolumen, Inkubationszeit und Inkubationstemperatur) zu lysieren vermag. Der C'-Titer des Serums ist gleich der Anzahl von C'H50 in 1 ml unverdünntem Serum.

Zur Durchführung der Gesamt-C'-Titerbestimmung wurde Hammel-Blut verwendet, das unter sterilen Kautelen aus der vena jugularis entnommen und in 1,5 bis 2 fachem Volumen modifizierter, steril filtrierter Alsevers-Lösung aufgenommen wurde. Die Alsevers-Lösung hatte folgende Zusammensetzung:

NaCl..... 4,2 g
Glucose.....20,5 g
Acidum citricum... 0,55 g
Na-Citrat (x5,5 H_2O)..9,7 g ;p_H:6,1

Das in Alsever aufgenommene Blut wurde bei 2 - 4°C aufbewahrt. Zur Herstellung

einer standardisierten E-Suspension wurden die Hammel-E drei bis fünfmal mit ca. 5fachen Volumen Alsevers-Lösung in der Zentrifuge gewaschen, und zwar jeweils 10 Min. bei 2500 r.p.m. Beim ersten Waschvorgang wurden Plasma und Leukocyten aspiriert. Nach der letzten Waschung werden die gepackten E wiederum in Alsever aufgenommen und durch Watte oder mehrfach geschichtete Mullbinden filtriert. Anschließend wird die E-Suspension auf die gewünschte E-Zahl eingestellt.

Hierzu werden 0,1 ml E (aufgezogen in einer 0,1 ml-Pipette) zu 2,5 ml einer Transformationslösung nach BETKE und SAVELSBERG (1959) zugegeben, die sich folgend zusammensetzt:

Na_2CO_3 .....1000 mg
Kaliumferricyanid ... 200 mg
Kaliumcyanid ..... 200 mg
ad 1000 ml mit Acqua dest.

Nach gleichmäßiger Durchmischung von E und Transformationslösung tritt sofortige Lyse der E mit Hämoglobin (Hb)-Austritt ein. Es wird das zweiwertige Eisen innerhalb des Hb-Moleküls von $K_4[Fe(CN_6)]$ oxydiert zu dreiwertigem. KCN reagiert dann mit dem Hämiglobin zum stabilen Cyanhämiglobin. Die Extinktion der Cyanhämiglobinlösung wird gemessen im Fotometer "Eppendorf" (bei einer Wellenlänge von 546 mμ mit einer

Küvette von 10 mm Durchmesser gegen einen Aqua dest. Leerwert.

Mittels einer Eichkurve kann aus der Größe der Extinktion die E-Zahl ersehen werden. Zur Ermittlung der Relation von einer E-Zahl und der optischen Dichte (O.D.) seines Hämolysats wurden einerseits die E im "Sanborn Frommer Cell Counter" gezählt und andererseits die Extinktion ihrer Cyanhämiglobinlösung gemessen. In Abb. 3 ist diese Beziehung von E-Zahl und O.D. in einem Diagramm dargestellt. Die Extinktion steigt dabei in dem angegebenen Bereich streng proportional mit der E-Konzentration an.

Anschließend wird die E-Suspension auf die gewünschte Standard-E-Zahl eingestellt. Als Standard-E-Zahl wurden für die C'-Titrationen - falls nicht anders aufgeführt - ca. $4{,}8 \times 10^6$ E/ml (= O.D.:1,5) eingesetzt. Dazu wurde die optische Dichte der Anfangssuspension (= O.D.i) und ihr Anfangsvolumen (Vi) gemessen und nach folgender Gleichung auf ein Endvolumen (Vf) korrigiert, dessen Konzentration der optischen Dichte des E-Standards entspricht:

$$V_f = V_i \frac{O.D._i}{O.D._f} \quad .$$

Die Anfangssuspension muss dabei stärker konzentriert sein als die gewünschte Standardkonzentration. Die standardisierten E werden ebenso in Alsevers-Lösung bei ca. $2^{\circ}C$ aufbewahrt.

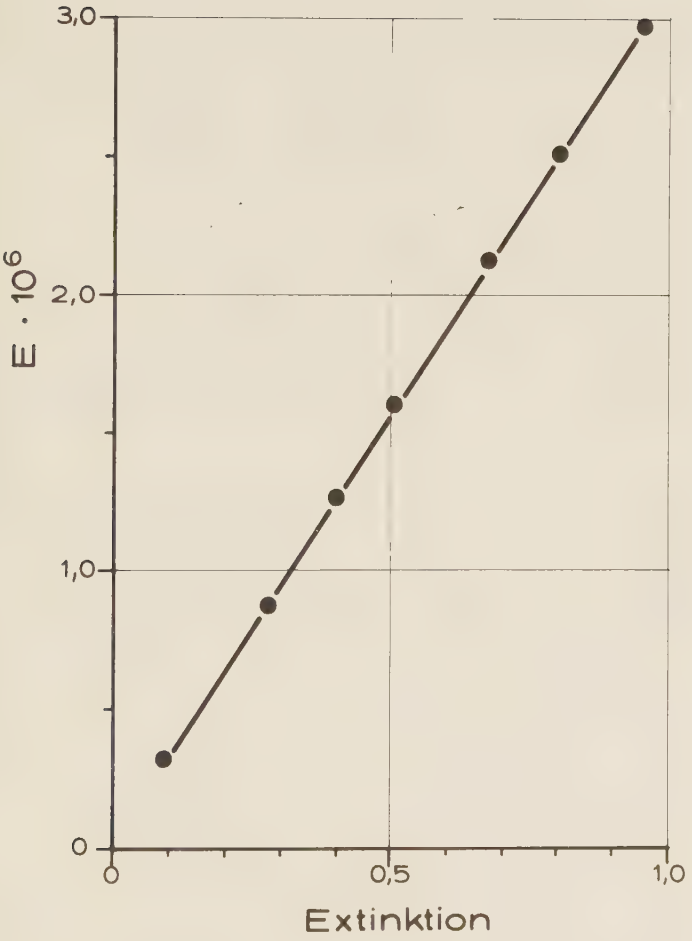


Abb.3 Relation zwischen Erythrocyten (E)-Zahl und Extinktion ihrer Cyanhämiglobinlösung bei 546 mμ.

Zur Herstellung sensibilisierter E (EA) werden die E mit anti-Hammel-E-Kaninchen-Antiserum (Amboceptor; Behringwerke) 30 Minuten bei 37°C im Wasserbad unter ständigem Schütteln inkubiert. Die Amboceptor-Verdünnung ist so gewählt, daß eine optimale Sensibilisierung der E gewährleistet ist. Die optimale Sensibilisierung der E in Beziehung zur Hämolyse wird im Amboceptorvorversuch ermittelt. Im Amboceptor limitierten System mit C' im Überschuss ist die Verdünnung des Amboceptors als Amboceptoreinheit (AE) definiert, bei der noch 100% Hämolyse eintritt.

Einer Amboceptorverdünnungsreihe mit je 0,5 ml (verdünnt in isotoner Citrat-Salz oder EDTA-Lösung) werden je 0,5 ml E hinzugefügt mit folgender 15-minütigen Inkubation bei 37°C unter ständigem Schütteln. Anschließend werden jedem Röhrchen 5,5 ml Veronalpuffer nach MAYER (1961) und 1,0 ml Meerschweinchen-C' (C'gp) zugegeben. C'gp ist ca. 1/20 zu verdünnen. Der Reaktionsansatz wird 30 Minuten bei 37°C inkubiert im Wasserbad mit Schüttler. Die Amboceptorverdünnung im letzten Röhrchen mit völliger Lyse gibt die AE an. Dieses Ablesen muss sofort erfolgen, da der Amboceptor fähig ist zu dem sog. "transfer", also von einer Zelle zur anderen zu "springen", so daß bei dem Ansatz mit C' im Überschuss nach mehreren Stunden auch völlige Lyse in Röhrchen mit Verdünnungen eintritt, in denen nach 30 Minuten nur eine geringe Hämolyse

zu sehen war. Der Agglutinationstiter wurde wie folgt bestimmt: 0,2 ml einer Amboceptorserienverdünnung wurden je 0,2 ml E hinzugefügt, sowie 0,2 ml Veronalpuffer. Der Reaktionsansatz wurde 30 Minuten inkubiert bei 37°C und nach 60 Minuten Verbleiben bei Zimmertemperatur wurde mit dem bloßen Auge die sichtbare Agglutination abgelesen. Diese Vorversuche wurden vor jeder Sensibilisierung unternommen. Tabelle 5 gibt das Protokoll eines solchen Vorversuches wieder.

Tabelle 5 Amboceptor-Vorversuche für Amboceptor RLD 24 (Behringwerke) bei einer E-Suspension mit O.D. 1,5 für 100% Hämolyse

reziproke A-Verdünnung	0	20	30	40	60	80	120	160	240	320	480	640	960	1280	1920
Agglutination	∅	###	###	###	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Hämolyse	∅	+	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	+	+	+

Gleiche Mengen A-Verdünnung in Citratsalz oder EDTA-Lösung mit 4 AE und E in Alsever werden 30 Minuten bei 37°C unter ständigem Schütteln inkubiert und somit EA erhalten. Die EA werden dreimal in isotonischer Citratsalzlösung gewaschen, um C'1 von den EA zu eliminieren (BORSOS, RAPP (1965)). In Citratsalz gewaschene EA werden zweimal in Veronalpuffer nach MAYER (1961) aufgenommen. Die EA-Zahl wurde photometrisch überprüft. Die oben erwähnten Lösungen setzten sich wie folgt zusammen:

Citratsalzlösung:	Gelatine-Veronalpuffer (GVP):
(0,15 M)	NaCl.....85,0 g
NaCl..... 7,01 g	Na-Barbital.. 3,75 g
NaCitrat (x5,5 H_2O) 10,71 g; Aqua dest ad 1000 ml	Barbital..... 5,75 g
	Gelatine..... 2,0 g x)
	Aqua dest ad 2000 ml; p_H: 7,3

Der Ionenzusatz ist für die Titration von Ratten-C' verändert und wird dort angegeben.

EDTA-Lösung: GVP mit 0,02 M EDTA

Blutproben zur C'-Bestimmung wurden nach Blutentnahme eine Stunde bei Zimmertemperatur und eine Stunde im Kühlschrank belassen. Nach Zentrifugieren und Abheberung des Serums wurde dies bei -70°C in einer Tiefkühlanlage (Linde) aufbewahrt.

Prinzipiell ist der Reaktionsansatz zur Bestimmung des C'-Titer eines Serums ein C' - l i m i t i e r t e s Reaktionssystem. In Tabelle 6 ist der Reaktionsansatz einer typischen C'-Titrierung wiedergegeben:

---

x) Ionenzusatz für die Titration von Meerschweinchen-, Kaninchen- und menschlichem C' :

5,0 ml: 1,0 M $MgCl_2$
0,3 M $CaCl_2$ - Lösung

Tabelle 6 Reaktionsansatz zur Gesamt-C'-Bestimmung

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
EA	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
GVP	6,0	5,5	4,5	4,0	3,5	2,5	1,5	1,5	0,5	6,5
C'	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	4,0	5,0	6,0	-

Eine exakt bemessene C'-Verdünnung (mit 0,1 ml Pipetten) wird also in abgestuften Mengen sensibilisierten E zugegeben. Durch entsprechend abgestufte Mengen von GVP wird das Gesamt-Reaktionsvolumen konstant gehalten. Der Ionenzusatz für die Titration von menschlichem C' (C' hu) und Meerschweinchen -C' (C' gp) ist bei einer Konzentration von 0,000 5 M Mg-Ionen und 0,000 15 Ca-Ionen für die gesamtlytische Aktivität optimal. Während der Zugabe von C' wird der Reaktionsansatz im Eisbad gehalten, um Aktivierungen und Inaktivierungen von C'-Komponenten vor der eigentlichen Inkubationsperiode möglichst auszuschalten. Während der Inkubationszeit bei 37°C erfolgt ständiges Schütteln im Schüttelwasserbad (Köttermann, Hänigsen), um die Suspension in den Reagenzgläsern (mit Durchmesser 14 mm) uniform zu erhalten. Nach Beenden der Inkubation werden die jeweils nicht lysierten Zellen des Reaktionsansatzes abzentrifugiert. 1 ml des hämolytischen Überstandes wird abpipettiert und mit der gleichen Menge Transformationslösung gemischt. Die hierbei erfolgte Umwandlung des Oxy - Hb in Cyan-Hämiglobin läßt beim Ablesen der Extinktionen in einer Wellenlänge

nicht den Fehler zu, der sich durch teilweise Wandlung des Oxy-Hb in Met-Hb mit differenten Absorptionsmaxima sonst ergeben würde.
Oxy-Hb-Lösungen haben im Wellenbereich von 600 bis 500 mμ Absorptionsmaxima bei 568 und 535 mμ ; dagegen weist Cyan-Hämiglobin in diesem Bereich eine einzige Spitze bei 520 mμ auf (Abb. 4).

Die Extinktionsmessungen werden vorgenommen mit Küvetten von 1 cm Durchmesser im selbständig registrierenden Spektralphotometer Beckman DU in einem Wellenbereich von 600 bis ca. 500 mμ oder im Photometer Eppendorf mit Filter 546 mμ gegen einen Leerwert von Transformationslösung. Die Extinktionen eines Hämolysats bei vollständiger Hämolyse der angewandten EA (positive Kontrolle), bzw. eines Überstandes ohne jegliche Hämolyse (negative Kontrolle) sind bei gleichem System die konstanten Bezugswerte für 100%ige, bzw. keine Hämolyse zum Umrechnen der Extinktionswerte in prozentuale Hämolyse.

Wird die prozentuale Hämolyse von EA als Funktion der Volumina von C' im Diagramm aufgetragen, so ergibt sich ein sigmoidaler Kurvenverlauf. Hieraus ist ersichtlich, daß relativ große Mengen C' benötigt werden, um z.B. die prozentuale Hämolyse von 80% auf 85% zu erhöhen, während relativ geringe C'-Mengen im Bereich um 50% Hämolyse zu

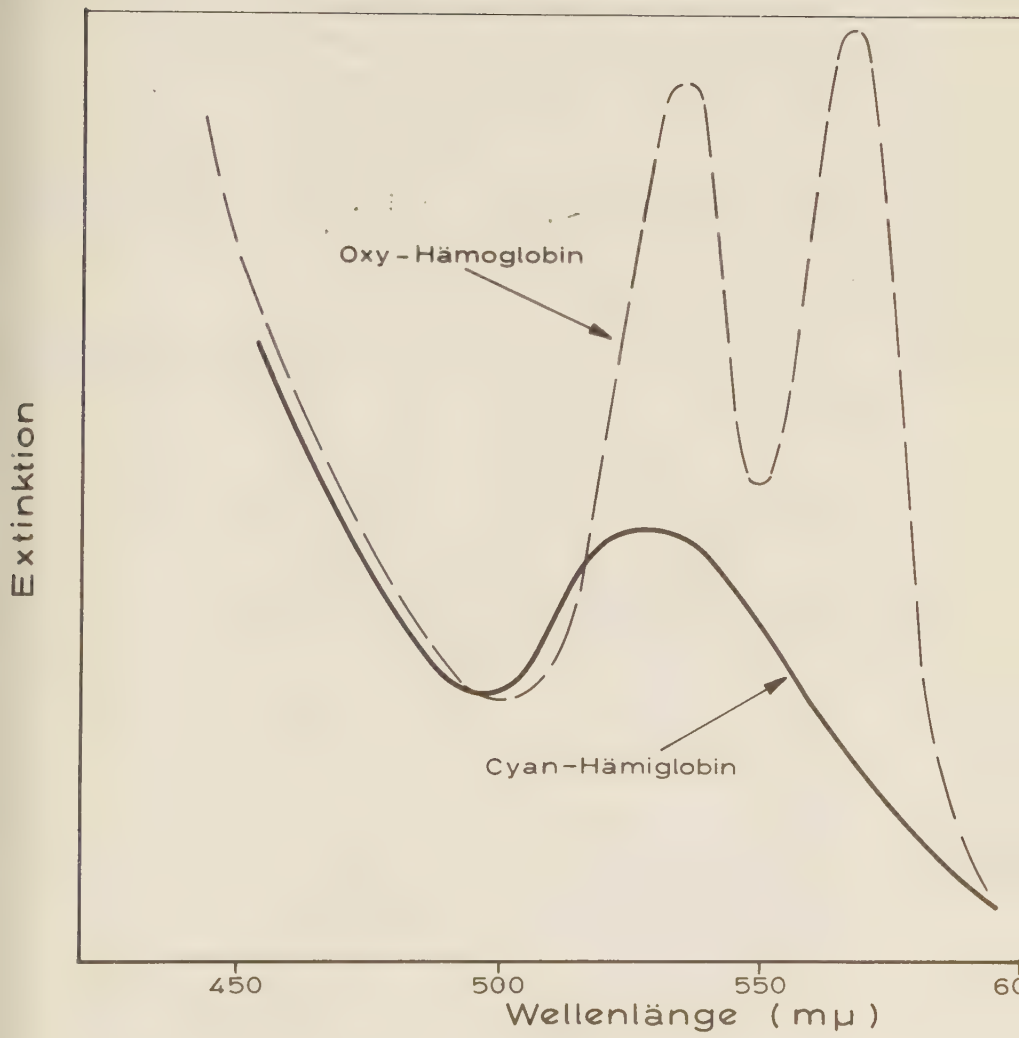


Abb.4 Absorptionsspektren von Oxy-Hämoglobin und Cyan-Hämiglobin

derselben prozentualen Hämolyseerhöhung notwendig sind. Nur in diesem steil verlaufenden Kurvenabschnitt verhalten sich C'-Mengen und bewirkte prozentuale Hämolyse direkt proportional. Mathematisch wird der Kurvenverlauf der hämolytischen C'-Reaktion beschrieben durch die v. K R O G H 'sche G l e i c h u n g (1916): $x = K.(\frac{y}{1-y})^{1/n}$, wobei x der Menge C', y der prozentualen Hämolyse als Fraktion von 1 und K, sowie 1/n Konstanten entsprechen. Bei 50%iger Hämolyse ist K=x. 1/n wird z.B. beeinflusst von der EA-Konzentration. Die logarithmische Umwandlung der v. KROGH'schen Gleichung ergibt:

$$\log x = \log K + 1/n \log (\frac{y}{1-y}) .$$

Log x aufgetragen gegen $\log (\frac{y}{1-y})$ beschreibt eine Gerade, deren Steigung $m = \frac{1}{n}$ ist. Bei 50% Hämolyse (y = 0,5) ist $\log (\frac{y}{1-y}) = 1$. Nach jeweiliger Umwandlung der den einzelnen C'-Mengen entsprechenden Hämolysewerte in die y/1-y-Werte mittels der Tabelle von M.M. MAYER (1961), kann im doppelt logarithmischen System bei Auftragen von log x als Ordinate und log y/1-y als Abszisse die C'-Einheit (C'H 50) in ml graphisch ermittelt werden. Die Zahl von C'H 50, bezogen auf das ursprüngliche unverdünnte Serum, ergibt den C'-Titer (= C'H 50/ml). Die Quantität von C' - K o m p o n e n t e n - A k t i v i t ä t e n kann mit R-Seren ermittelt werden. Bei den R-Seren handelt es sich - wie bereits ausgeführt - um C'-Systeme mit scharf umrissenen Defekten. Ein R-Serum muss bis auf die zu titrierende(n) C'-Komponente(n) alle

anderen C'-Aktivitäten in großer Menge enthalten ~~(Abb.7)~~. Nach Addition eines C'-Serum mit einem R-Serum limitiert die zu titrierende C'-Untereinheit, die im R-Serum fehlt, die gesamtlytische Kraft des gesamten Reaktionssystems, da sie ja in geringster Quantität vorhanden ist (s. Tab. 7a, 7b).

Tab. 7a Herstellung von R1 durch Kombination von C'h 56 und C'E

C'h56	~~ø~~	4	~~ø~~	3a	3b	3α	3β	~~ø~~	3d
+									R1
C'E	~~ø~~	4	2	3a	3b	3α	3β	3c	3d

Tab. 7b Kombination von R1 mit einem kompletten C'-System

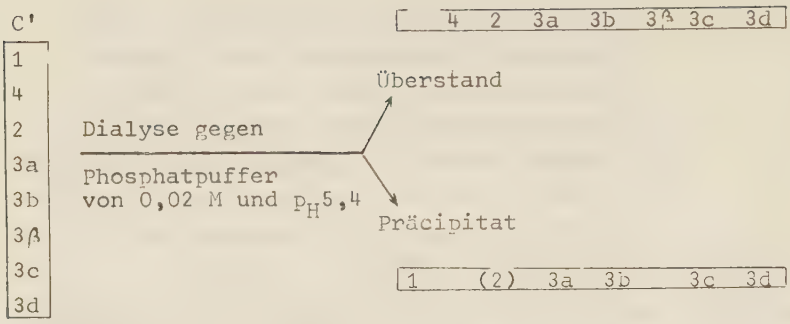
R1	~~ø~~	4	2	3a	3b	3α	3β	3c	3d
+									
C'	1	4	2	3a	3b	3α	3β	3c	3d

Somit ist also bei der Titration eines C'-Serums (= C'_x) mit einem R-Reagenz der ermittelte C'-Titer gleich dem C'_x-Komponenten-Titer der im R-Reagenz fehlenden C'-Komponenten.

Zur H e r s t e l l u n g der R-Seren wurden folgende Methoden verwendet:

Nach Dialyse von C' gegen einen Phosphatpuffer von 0,02 M und p_H 5,4 wird als C'-Mittelstück (C'M) ein Präcipitat und als C'-Endstück (C'E) der Überstand erhalten (s. Abb. 8).

Tab. 8



Es wird dazu 10 ml Serum (C') in einen Dialyseschlauch gebracht (Kalle & Co.), in dem sich ein verschlossenes Glasröhrchen befindet, so daß die dünne C'-Schicht in dem ringförmigen Zwischenraum von Glasröhrchen und Dialyseschlauch eine relativ große Dialysierfläche bietet. C' wird in ca. 200-fachem Volumen eiskalten Phosphatpuffers (KH_2PO_4/Na_2HPO_4) von 0,02 M mit p_H 5,4 in der Kälte dialysiert. Der Puffer wird durch einen Magnetrührer in langsamer Bewegung gehalten und stündlich gewechselt, insgesamt viermal. Die Temperatur des Puffers wird dabei kontrolliert (sie überstieg in allen Versuchen nie 4°C). C' nach insgesamt fünfstündiger Dialyse wird 10 Min. bei 5000 rpm zentrifugiert. Das Präcipitat wird dreimal in dem obigen Phosphatpuffer und einemal in Gelatine-Veronal-Puffer (GVP) gewaschen und schließlich mit GVP auf das ursprüngliche Volumen aufgenommen, womit C'-Mittelstück (C'M) erhalten wird. Der nach der ersten Zentrifugation des dialysierten C' verbliebene

Überstand wird durch Zugabe von 1/10-Volumen 10%iger NaCl-Lösung isotonisch gemacht und mit 0,15M NaOH auf p_H 7,2 eingestellt, womit C'-Endstück (C'E) erhalten wird. C'E und C'M werden in kleinen Mengen abgefüllt und bei -70°C aufbewahrt.

Wie aus Tab. 8 hervorgeht, handelt es sich bei C'-Mittelstück um Euglobuline, die als Präcipitat von C' in der Kälte nach Dialyse gegen 0,02M Phosphatpuffer von p_H 5,4 ausfallen und bei Verdünnung 1/20 die C'-Komponenten bis auf C'4, C'3 und C'2 enthalten, während der nach derselben Dialyse nicht präcipitierende Überstand C'-Endstück keine C'1 ~~und C'3~~ -Aktivitäten enthält.

Als C'h56° wird ein Serum bezeichnet, das nach Einstellen auf p_H 7,0 mit 0,15 M HCl 20 Minuten mit Hitze (56°C) behandelt wurde. In so hitzeaktivierten C' fehlen die C'-Aktivitäten C'1, C'4 und C'3c. Die verschiedenen C'-Komponenten sind verschieden hitzebeständig. Tabelle 9 weist die unterschiedlichen Halbwertszeiten ihres Zerfalls bei 56°C auf.

Tabelle 9 Halbwertszeiten der C'-Aktivitäten in Minuten bei 56°C

C'-Aktivität	C'1	C'4	C'2	C'3a	C'3b	C'3	C'3	C'3c	C'3d
Halbwertszeit des Aktivitäten-zerfalls bei 56°C	2	1	20	>600	12	41	23	2	12

(Zusammengestellt nach Linscott u. Nishioka (1963); Nelson (1965); Inoue a. Nelson (1965, 1966))

Nach Mischen gleicher Teile C'E (Verdünnung 1/5 mit GVP) und C'h56 ergibt sich ein R1-Serum

Nach Mischen von C'h56 und C'M (Verdünnung 1/20) ergibt sich ein R2-Serum. Ein R3a, b -Serum wird erhalten durch 60minütige Inkubation bei 37°C eines intakten C'-Systems mit einer 0,5%igen Cobra-Toxinlösung (Cobragift von Hynson, Westcott & Dunning Incorp., Baltimore/USA). Dieses C'-Cobra in der Gebrauchsverdünnung 1/20 kann als R3a, b -Serum Anwendung in C'-Komponenten-Titration finden.

Auf p_H 8,5 eingestelltes C' ergibt nach 20minütigem Erhitzen bei 62°C ein C'h62-Serum, das als Restbestandteil von dem C'3-Komplex nur noch C'3a und C'3d enthält. Kombination von C'h62 und C'-Cobra ergibt ein R3b-Serum. Nach 90minütiger Inkubation bei 37°C von je 10 ml C' mit 2,5 ml 0,16M Hydrazinhydratlösung (Merck, Darmstadt) mit anschließender p_H-Adjustierung auf p_H 7,2 mittels 0,15 N HCl ergibt sich in einer Verdünnung von 1/5 ein R 4-Serum, in einer Verdünnung von 1/120 ein Serum mit einem zusätzlichen C'3a-Defekt, also ein R3a, 4 -Serum. Der C'4-Verlust bei einem R3a, 4 -Serum kann ausgeglichen werden durch Zugabe von C'-Cobra zur Herstellung eines Serums mit ausschließlichem C'3a-Defekt. Die jeweils hergestellten R-Chargen in den oben angegebenen Gebrauchsverdünnungen werden in Kombinationsversuchen untereinander überprüft (Tab.10). Hierzu werden den einzelnen

R-Seren nach Mischen untereinander sensibilisierte E und GVP zugegeben und 15 Minuten bei 37°C inkubiert und die jeweilige Hämolyse ermittelt (s. Tab. 10).

Tabelle 10 Lytische Effekte nach Kombination von R-Reagentien

(Erläuterung der Symbole siehe Text)

	R 1	R 4	R 2	R3a	R 3a,b	R 3b	GVP
R 1	⌀	###	###	###	###	###	⌀
R 4	###	⌀	###	###	###	###	⌀
R 2	###	###	⌀	###	###	###	⌀
R 3a	###	###	###	⌀	###	###	⌀
R 3a, b	###	###	###	###	⌀	###	⌀
R 3b	###	###	###	###	###	⌀	⌀

Bei der Titration von C' - Komponenten wird im Prinzip festgestellt, wieviel von dem zu titrierenden C' (C'_x) einem R-Serum zugesetzt werden muss, um dessen gesamtlytische Aktivität wieder herzustellen. Es ist hier möglich, den gleichen Reaktionsansatz wie zur Titrierung von Gesamt-C' - lediglich mit zusätzlichem R-Serum - nach MAYER (1961) zu benutzen. Da diese Methode jedoch technisch sehr aufwendig ist, wird durch eine geometrische Verdünnungsreihe des C'_x zweier verschiedener Ausgangsverdünnungen (sog. "twofold dilution method") die C'-Verdünnung festgestellt, die gerade noch 100% Hämolyse hervorruft. Die Titerangabe erfolgt in 100%-Einheiten pro ml des unverdünnten Serums, wobei eine 100%-Einheit der Menge an C'-Aktivität entspricht, die $0{,}5 \times 10^6$ EA/ml zu lysieren vermag.

Folgender Reaktionsansatz wurde verwendet:

1) C'_x 0,5 ml in geometrischer Verdünnungsreihe
2) R-Reagenz 0,5 ml
3) EA 0,5 ml (0,5 x 10^6 EA/ml)
4) GVP 1,0 ml
5) 30 Minuten Inkubation des Reaktionsansatzes bei 37°C im Wasserbad
6) positive und negative Kontrollen

2. Herstellung von C'-Intermediärprodukten

Zur Herstellung von EAC'1 wurden EA (0,75x10^6/ml) und hydrazinbehandeltes C' (=C'NH_3) in einer Verdünnung von 1/5 zu gleichen Teilen für 5 Minuten bei 37°C inkubiert, anschließend zentrifugiert, der Überstand verworfen und das EAC'1-Sediment nach nochmaliger zweifacher Waschung mit GVP wiederum in GVP auf das ursprüngliche Volumen aufgenommen. Die Herstellung von EAC'1,4,2 erfolgte nach Mischung zu gleichen Teilen von C'-Cobra (1/10) und EA (0,75 x 10^6/ml) und anschließender Inkubation bei 37°C für 10 Minuten. Danach wurden die Zellen mindestens dreimal in eiskaltem GVP in der Zentrifuge mit eisgekühlten Zentrifugenbechern gewaschen und zuletzt in eiskaltem GVP auf das ursprüngliche Volumen aufgenommen. Um EAC'1,4-Zellen zu erhalten, wurden EAC'1,4,2-Zellen für 120 Minuten bei 37°C inkubiert unter ständigem Schütteln, danach zentrifugiert, der Überstand verworfen und das Zellsediment dreimal in GVP gewaschen, um zuletzt in GVP in ursprünglichem Volumen aufgenommen zu werden.

EAC'4-Zellen ergaben sich nach 15minütiger Inkubation von EAC'1,4 mit Citrat-NaCl-Lösung bei 37°C unter ständigem Schütteln, anschließendem dreimaligem Waschen mit Citrat-NaCl und dreimaligem Waschen mit GVP in der Zentrifuge, wobei die Überstände jeweils verworfen wurden. EAC'4-Zellen wurden ebenfalls in GVP aufgenommen.
EAC'1,4,2,3a-Zellen wurden hergestellt, indem EAC'1,4,2-Zellen ($0{,}75 \times 10^6$/ml) und C'h62 (1/10) zu gleichen Teilen für 10 Min. bei 37°C inkubiert wurden, anschließend in eiskaltem GVP in der Zentrifuge dreimal gewaschen und in eiskaltem GVP aufgenommen.

Nach Mischen von gleichen Teilen EAC'1,4,2-Zellen ($0{,}75 \times 10^6$/ml) und C'h56 (1/10) und 10minütiger Inkubation bei 37°C ergaben sich EAC'1,4,2,3a,b,α,β-Zellen, die mehrere Male in eiskaltem GVP gewaschen und in eiskaltem GVP aufgenommen wurden auf das ursprüngliche Volumen der Zellsuspension.

Alle mit C'-Aktivitäten beladenen Zellen wurden bei 1-3°C aufbewahrt. EAC'1,4,2; EAC'1,4,2,3a; EAC'1,4,2,3a,b,α,β-Zellen wurden bei Gebrauch täglich hergestellt, während die anderen hier beschriebenen Intermediärprodukte für ca. 5 Tage verwendet wurden. Vor Gebrauch wurden die Intermediärprodukte mit verschiedenen C'-Fragmenten inkubiert. Die Ergebnisse von diesen Kontrollversuchen sind aus Tabelle 18 ersichtlich.

3. Herstellung von Organhomogenaten und lebenden Zellsuspensionen

Zur Gewinnung von O r g a n h o m o g e n a t e n wurden Meerschweinchen (Stamm "Pirbright white") getötet, entblutet und unter aseptischen Kautelen Nieren, Leber und Lungen entfernt. Nach Abziehen der Nierenkapseln, längsseitiger Halbierung und Entfernung des Nierenbeckens wurden alle Organe in GVP gegeben und mehrmals gewaschen, bis der Überstand klar blieb. Sodann wurden die Organe im Virtis-45-Homogenisator (Gardiner, New York/USA) fein zerschnitten, und zwar Nieren und Lungen bei mittlerer Tourenzahl, Leber bei kleiner Tourenzahl für 5-10 Minuten. Anschließend wurden alle Organhomogenate für 5 Min. bei 2000 rpm zentrifugiert. 9 Teilen GVP wurde 1 Teil Organsediment zugegeben, so daß also 10%iges Organhomogenat resultierte (= Organhomogenat I). Der Überstand wurde in verschiedenen Verdünnungen in GVP aufgenommen (= Organhomogenat II). Zur Herstellung von l e b e n d e n Z e l l s u s p e n s i o n e n wurden mit gleichen Methoden von Meerschweinchen Nieren und Leber entnommen und wie oben angegeben behandelt, jedoch mit dem Unterschied, daß als Waschflüssigkeit Hanks-BSS diente. Nach 6-10 maliger Waschung der Organhomogenate wurden diese zur proteolytischen Auftrennung des Gewebebreies mit Trypsin behandelt. Dazu wurden Nieren und Leber getrennt mit 0,5%iger Trypsinlösung (p_H 7,4) überschichtet und zur Vorverdauung während

30 Minuten bei 37°C zur mechanischen Unterstützung des proteolytischen Aufschlusses im Magnetrührer gerührt. Nach Verwerfen des Überstandes erfolgte der eigentliche Aufschluss des Gewebebreies. Dazu wurde der Rückstand erneut mit Trypsinlösung überschichtet und während einer Stunde bei 37°C gerührt. Der Überstand wurde dann in einem vorgekühlten Erlenmeyer-Kolben abgegossen. Mit neuer Trypsinlösung wurde bis zur völligen Auftrypsinierung dieser Vorgang in gleicher Weise viermal in Intervallen von einer Stunde wiederholt. Die Überstände sammelte man im Eisschrank und filtrierte sie abschließend durch sterilen Mull.

Zur endgültigen Befreiung von Zelldetritus, Erythrocyten sowie Trypsin wurden die erhaltenen Zellsuspensionen bei 1000 rpm 10 Minuten lang zentrifugiert, die Überstände verworfen und dann dreimal das Zellsediment in Lahnscher-Lösung gewaschen, wobei jeweils eine Zentrifugation der Suspensionen für 10 Minuten bei 500 rpm erfolgte. Nach dem letzten Waschprozess wurde das Zellsediment zu 10% in Lahnscher-Lösung mit Kalbsserum (5%) aufgenommen.

4. Versuchsansätze zur Bestimmung antikomplementärer Effekte von Organhomogenaten, Zellsuspensionen und Zellkulturen

Um auch geringfügige B e e i n f l u s s u n g e n des C'-Titers durch O r g a n h o m o g e n a t e zu erfassen, wurde nach Vorversuchen mit C' vom Meerschweinchen (C' gp) eine solche C'-Verdünnung gewählt, daß 1 ml des C'gp ca. 75% Hämolyse bewirkte (≈ 1,5 C'H50/ml). In diesem Hämolysebereich sind bereits geringfügige C'-Inaktivierungen zu erfassen. Das so eingestellte C' (in einer Verdünnung von ca. 1/125 mit GVP) entsprach dem C'-Standard I. Der Reaktionsansatz zur Ermittlung von anti-C'-Effekten von Organhomogenaten setzte sich wie folgt zusammen:

1)	Organhomogenat) GVP)	1,0
2)	C'-Standard I	1,0
3)	EA ($0{,}75 \times 10^6$/ml)	0,5
4)	GVP	1,0

Als positive Kontrolle wurde als Ersatz für die Organhomogenate GVP eingesetzt, als negative Kontrolle für C'-Standard I wiederum GVP. Die Organhomogenate wurden in einer geometrischen Verdünnungsreihe eingesetzt. Weitere Vorversuche ergaben, daß ein antikomplementärer Effekt nur auftrat nach vorheriger Inkubation der Nierenhomogenate mit dem C'-Standard, so daß die einzelnen Organhomogenate zunächst 15 Minuten mit dem C'-Standard bei 37°C unter ständigem Schütteln inkubiert wurden, bevor EA und GVP in den

oben angegebenen Mengen zugegeben und der gesamte Reaktionsansatz dann für weitere 45 Minuten inkubiert wurde.

Zur Bestimmung des anti-C'-Effektes von isolierten, lebenden Organzellen wurde zunächst ein C'gp so verdünnt, daß nach Inkubation mit sensibilisierten E ($0{,}75 \times 10^6$/ml) eine 75%ige Hämolyse resultierte (= C'-Standard I). Die gesamtlytische Aktivität eines C'-Standards III betrug nach vorheriger Einstellung 22,0 C'H50/ml. Jeweils gleiche Teile eines doppelt konzentrierten C'-Standards III und I wurden mit der jeweiligen Zellsuspension gemischt und dann 15 und 30 Minuten bei 37°C im Wasserbad geschüttelt. Nach der Inkubation wurden die Ansätze direkt in ein Eisbad (1°C) übertragen und dann 5 Minuten bei 1000 rpm in der Kälte zentrifugiert. Der Überstand mit dem darin enthaltenen C'-Standard wurde sodann mit $0{,}75 \times 10^6$EA/ml und GVP in üblicher Weise gemischt und 40 Minuten bei 37°C im Wasserbad geschüttelt. Nach Zentrifugation (2500 rpm/5Min) wurde der Überstand mit dem Hämolysat abgegossen und verworfen wegen der bei der photometrischen Auswertung störenden Eigenfarbe der Lahn-Medien. Zu dem verbliebenen EA-Sediment gab man 5 ml Transformationslösung. Die Extinktion der resultierenden Cyanhämiglobinlösung und ihre Umrechnung in prozentuale Hämolyse, sowie bei C'-Standard IV in C'H50/ml erfolgte in typischer Weise, wobei die jeweilige

Gesamt-C'- bedingte Hämolyse der Differenz der Extinktionen von $0{,}75 \times 10^6$ gepackter und anschließend transformierter EA und der nach Inkubation im Sediment verbliebenen und dann transformierten EA entsprach.

Zusätzlich wurden "verbrauchte" Lahn-Medien, in denen zuvor lebende Zellen während 12 und 24 Stunden suspendiert und stoffwechselaktiv waren (Phenolrotumschlag!) auf antikomplementäre Effekte in gleicher Weise überprüft.

Zur Kontrolle wurden an Stelle der jeweiligen Zellsuspensionen zu C'-Standard III und IV nur Lahn-Medien gegeben, um primäre antikomplementäre Effekte dieses Mediums auszuschließen.

Zur Bestimmung des a n t i - C' - E f f e k t e s von N i e r e n g e w e b e k u l t u r e n wurden höchstens 10 Tage alte intakte Affennierengewebekulturen in Röhrchen nach mikroskopischer Überprüfung mit 2 ml C'-Standard IV (verdünnt in Lahn-Medien), das vorher auf 37°C gebracht war, verschieden lange im Wasserbad inkubiert bei 37°C. Nach der Inkubationsperiode wurde das C'-Material abgegossen und aufgefangen und sofort eingefroren bei -40°C. Die C'-Titerbestimmungen des mit Nierengewebekulturen inkubierten C'-Standards IV erfolgten in derselben Weise wie bei den Versuchen mit den Zellsuspensionen. Zusätzlich wurden die Lahn-Medien, in denen

die Nierenzellkulturen verschieden lange stoffwechselaktiv waren (Umschlag des Indikators Phenolrot ins Gelbe durch Verschiebung des p_H- Wertes nach der sauren Seite infolge der Atmungs- und Gärungsvorgänge der Gewebekulturen nach mehreren Stunden) unter gleichzeitiger p_H-Messung in der oben angegebenen Weise überprüft auf eventuell vorhandene anti-C'-Faktoren.

Zur Ermittlung der i n a k t i v i e r t e n C' - K o m p o n e n t e n bei Bestehen von anti-C'-Effekten wurde mit sog. "kinetischen" Reaktionsansätzen gearbeitet. C'gp, eingestellt auf 5,0 C'H50/ml kam dabei als C'-Standard II zum Einsatz. Dem Reaktionssystem wurden jeweils verschiedene R-Seren hinzugesetzt, um zu ermitteln, mit welchen C'-Komponenten der Defekt im C'-System zu schließen war und mit welchen nicht. Als Reaktionsansatz ergab sich dafür:

1) Nierenhomogenat	5,0 ml)	15 Min.,37°C
2) C'-Standard II	5,0 ml)	
3) R-Serum	5,0 ml	
4) EA ($0{,}75 \times 10^6$/ml)	2,5 ml	

Nach Vorinkubation von Nierenhomogenat und C'-Standard II wurden R-Serum und EA hinzugegeben zur Inkubation des gesamten Reaktionsansatzes bei 37°C im Wasserbad unter ständigem Schütteln. Aus dem Reaktionssystem wurden während der Inkubation in bestimmten Zeitabständen jeweils 1 ml Proben entnommen

und sofort hinzugesetzt zu 5 ml einer eiskalten 0,03 M Na-EDTA-Lösung in GVP, die sowohl Ca- und Mg-Ionen cheliert als auch C'3d und Lysis von Zellen im Zustand E^* inhibitiert (NELSON (1965)), so daß ein Reaktionsstop für C' der 1 ml Probe aus dem Reaktionssystem eintritt. Nach sogleich sich anschließender Zentrifugation für 5 Min. bei 3000 rpm in eisgekühlten Zentrifugenbechern wurden 2 ml des Überstandes abpipettiert und die optische Dichte des Hämolysats bestimmt.

5. Gewinnung von prärenalem und postrenalem Blut

Das Untersuchungsmaterial wurde bei Herzkatheteruntersuchungen zu Beginn des Untersuchungsganges bei sechs Patienten in den entsprechenden Gefäßbereichen entnommen. Das P a t i e n t e n g u t umfasste angeborene und erworbene Herzfehler ohne Zeichen einer stärkeren Herzinsuffizienz. In Lokalanästhesie wurde nach Punktion (nach SELDINGER) der art.fem. und V.fem.dextra über einen Führungsdraht ein Cournand-Katheter in Aorta und Vena cava inferior vorgeschoben. Die Blutentnahme erfolgte nach direkter Sondierung der V.hepatica, V.renalis dextra und sinistra und Aorta, bzw. der A.renalis dextra und sinistra. Die Patienten waren zuvor 12 Std. nüchtern; eine Sedierung während des Eingriffes erfolgte nicht.

Zusätzlich wurde bei Kaninchen unter Nembutal-Narkose nach Eröffnung des Bauchraumes direkt aus der vena renalis und der Aorta Blut entnommen.

Alle Blutproben wurden bis zur Abheberung des Serums für eine Stunde bei Zimmertemperatur und für eine Stunde im Kühlschrank aufbewahrt. Anschließend wurden die Seren jeweils bei -70°C eingefroren und aufbewahrt.

Bei den Gesamt-C'-Bestimmungen kamen $3{,}5 \times 10^6$ E/ml zur Anwendung.

6. Tierexperimentelle Pyelonephritis

Die Untersuchungen wurden an 100 Ratten mit einem Gewicht von 210-290 g durchgeführt. Bei den Ratten handelte es sich um eine Nachzucht des Zentralinstitutes für Versuchstierzucht, Hannover (Leiter: Dr.Dr.A.Spiegel) eines aus England (Allington Farm, Porton Down) gelieferten SPF-Wistar-Stammes. Die Tiere wurden einige Tage vor sowie während der Versuchszeit unter gleichbleibenden Bedingungen (Raumtemperatur, Fütterung) gehalten. Zur Fütterung wurde Preßfutter "altromin MS" (Fa. Altrogge, Lage/Lippe) sowie Wasser ad libitum gegeben.

Die Tiere wurden mit einem Str.faecalis-Stamm infiziert, der ursprünglich aus dem

Urin eines Pyelonephritis-Patienten isoliert. x) Die Identifikation und Charakterisierung von Str.faecalis, sowie die Herstellung der zur Infektion benötigten Str.faecalis-Bouillon wurde dabei wie folgt vorgenommen: Typische Einzelkolonien von Enterokken auf Blutplatten wurden in eine vorher autoclavierte Brain-Heart-Infusion-Bouillon (Difco, Detroit/USA) überimpft und 6 Std. bei 37°C bebrütet. Der so erhaltene Keim konnte Aesculin spalten, wuchs in 6,5%iger NaCl-Bouillon und in Tellurit-Medium, verflüssigte Gelatine nicht und produzierte saure Reaktionen in Lactose-, Mannitol-, Glucose- und Sorbitol-Medien. Sein Gram-Verhalten war positiv.

Vor Beginn des Hauptversuches wurden mit dem Keim mehrere "Nierenpassagen" durchgeführt. Dabei wurden Reinkulturen von Str.faecalis einigen Tieren intravenös gespritzt, die Nieren eine Woche danach aus den Tieren entnommen und aus Abszessen der Nieren erneut Str.faecalis-Kulturen gewonnen, die dann wiederum in obiger Weise überimpft und Ratten injiziert wurden. Vier derartige "Nierenpassagen" wurden durchgeführt. Der nach diesen "Nierenpassagen" erhaltene Str.faecalis wurde in 200 ml Brain-Heart-Infusion-Bouillon

---

x) Anm. Dieser Str.faecalis-Stamm wurde freundlicherweise von Herrn Prof.Dr. L.B.Guze, Veterans Administration Center, Los Angeles, Calif./USA, zur Verfügung gestellt

überimpft und 14 Std. bei 37°C unter ständigem Schütteln inkubiert. Nach der Bebrütung erfolgte die Keimzahlbestimmung der trüben Bouillon im Plattenausgußverfahren. Dabei ergaben sich 12×10^8 Keime/ml.

1,0 ml dieser Str.faecalis-Bouillon wurde den Ratten in die Schwanzvene injiziert, wobei etwas abgeschliffene Kanülen 18, sowie 1 ml Tuberkulinspritzen zur Anwendung kamen.

Nach Setzen der Injektion wurde verschiedenen Tieren in Gruppen von 3 bis 5 nach Zeiträumen von 1/2, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 und 26 Std. Blut entnommen durch Kappen der Schwanzvene unter leichter Äthernarkose. Weitere Blutentnahmen erfolgten bei denselben Tieren für Verlaufsuntersuchungen jeweils nach 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 16, 20, 21, 24 und 25 Tagen, sowie 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 15 und 24 Wochen post injectionem. Die jeweils gepoolten Blutproben der Tiergruppen von 3-5 Tieren waren entweder aus dem retroorbitalen Venenplexus nach MÖLLER (1955) oder durch Kappen der Schwanzvene gewonnen. Kontroll-Tieren wurde einmal ersatzweise 1 ml physiologische NaCl-Lösung injiziert und danach in unterschiedlichen Zeitabständen auf die gleiche Weise Blut entnommen.

Die Gewinnung und Aufbewahrung der einzelnen Seren zur C'-Titer-Bestimmung erfolgte in üblicher Weise.

Zwischenzeitlich wurden einige Tiere getötet, ihre Nieren entfernt zur bakteriologischen Verarbeitung oder zur histologischen Verarbeitung in 10%iger Formalin-Lösung (p_H 7,3) fixiert. Als Kriterien einer Pyelonephritis ohne Kenntnis des histologischen Befundes wurden gewertet: typische makroskopische Veränderungen wie punktförmige Nierenabszesse und narbige Einziehungen; direktes Züchten von Str.faecalis-Keimen aus Abszessen oder homogenisiertem Nierenmaterial. Mit Beendigung der tierexperimentellen Untersuchungen wurden alle Tiere getötet. Es zeigte sich dabei, daß2Tiere keine sichtbar pyelonephritisch veränderten Nieren aufwiesen, was in einer mißlungenen Injektion begründet liegen dürfte. Eine Verwertung der Seren der diesen Tieren zugehörigen Tiergruppen erfolgte nicht.

7. Patienten

Bei insgesamt 25 Patienten mit chronischen Harnwegsinfekten wurde jeweils wiederholt der C'-Gehalt des Serums bestimmt. Alle Patienten standen bei ambulanter Überwachung unter einer Langzeittherapie, teilweise befanden sie sich auch in stationärer Behandlung.
Zudem wurden die C'-Titer von 75 gesunden Kontrollpersonen bestimmt.

C. ERGEBNISSE

1. Ergebnisse der einleitenden Versuche zur Aufstellung einer reproduzierbaren Methode der C'-Titration

Da sich bei Untersuchungen des C'-Systems viele Fehlermöglichkeiten ergeben (BRENNER und ECKER (1965)), wurde bei Meerschweinchen-C' die Abhängigkeit des C'-Titers von der EA-Zahl bei konstantem Reaktionsmilieu und Reaktionsvolumen, bei Ratten-C' die Abhängigkeit des C'-Titers von der Magnesium- und Calciumionenkonzentration des Reaktionsmediums untersucht.

Aus der Definition der C'-Einheit (C'H50; s.o.) ist abzuleiten, daß C'H50 und damit der C'-Titer von der willkürlich verwandten E- bzw. EA-Zahl abhängig ist. Wenn z.B. die Anzahl EA in dem Reaktionsansatz 1 halb so groß ist wie im Reaktionsansatz 2 bei gleicher Menge C' und sonst gleichen Bedingungen, so ist nach Inkubation der Reaktionsansätze eine Extinktion, die in 2 ca. 65% Hämolyse entspricht, bereits größer als die für 100% in 2.

Es sollte jetzt festgestellt werden, ob jedoch die a b s o l u t e Zahl der lysierten EA bei konstanten C'-Mengen in gleichen Reaktionssystemen unabhängig ist von der g e s a m t e n EA-Zahl. Unter sonst konstanten Reaktionsbedingungen wurden

deshalb im C'-limitierten System verschiedene EA-Zahlen eingesetzt.

Die Untersuchungen wurden in einem mengenmäßig gegenüber Reaktionsansatz Tabelle 6 (5 3C) je um die Hälfte reduzierten Ansatz durchgeführt, so daß also jeweils ein Gesamtvolumen von 3,75 ml resultierte. Für alle Untersuchungen wurde dieselbe C'-Verdünnungslösung angewendet. In Abb. 5 und 6 sind die einzelnen Extinktionen und die jeweiligen proz. Hämolysewerte aufgeführt. Hieraus ist ersichtlich, daß in einem Reaktionssystem unter sonst gleichen Bedingungen bei gleicher C'-Menge die absolute Zahl der lysierten EA z u n i m m t mit größerer EA-Zahl. Bei den Reaktionsansätzen mit unterschiedlichen EA-Zahlen ergibt sich dabei mit steigenden Mengen C' eine größere zahlenmäßige Differenz der jeweils lysierten EA (Abb.11b). Die relative Zahl der lysierten EA, ausgedrückt durch die prozentuale Hämolyse, nimmt dagegen natürlich ab mit zunehmender EA-Zahl (Abb. 6). Ebenso ist der C'-Titer (C'h50/ml) desselben Meerschweinchen-C' abhängig von der EA-Konzentration (Abb.7). Folgende Überlegungen lassen diese Beobachtung erklären:
Die von einer persensibilisierten Zelle aktivierten C'-Moleküle werden - wie im ersten Kapitel ausgeführt - nur teilweise zellulär fixiert. Die nicht fixierten in der Flüssigkeitsphase werden teils inaktiviert, teils aber noch während ihrer

Abb.5 Lytische Effekte (als Extinktionen der Hämolysate) bei konstantem C' und variabler EA-Zahl

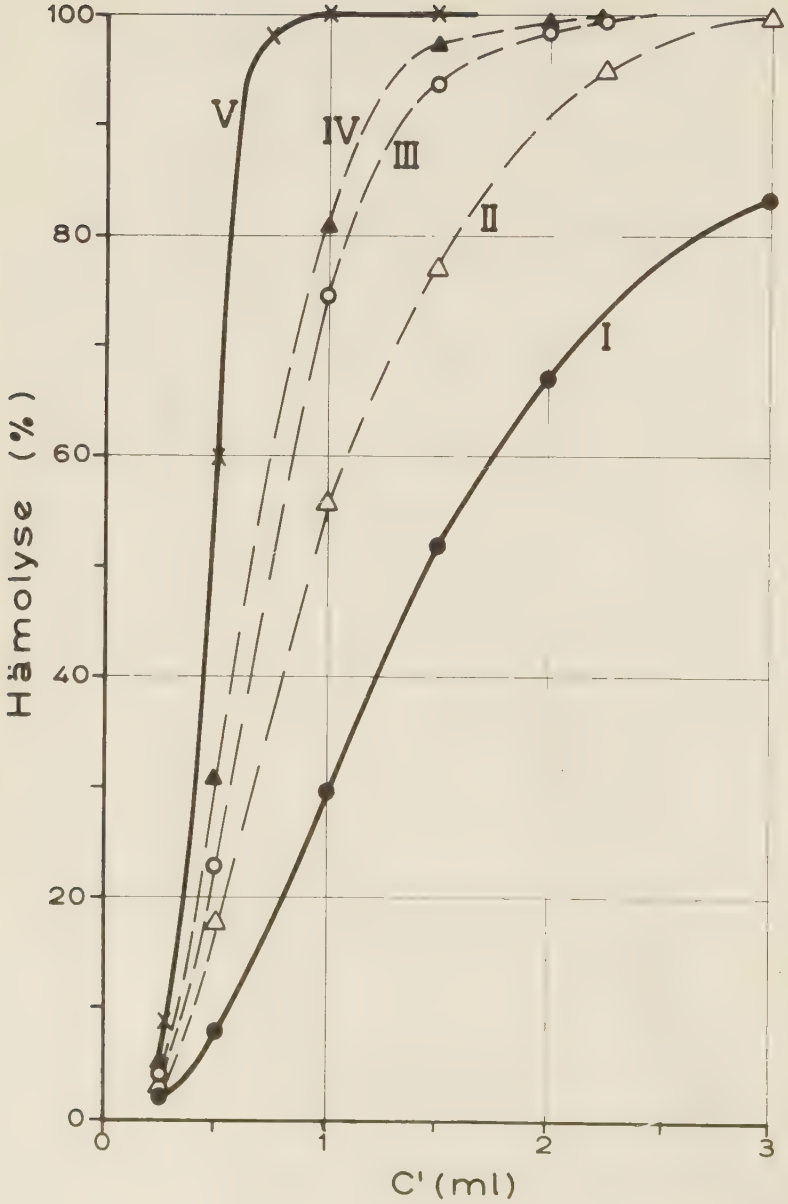


Abb.6 Lytische Effekte (als prozentuale Hämolyse der Hämolysate) bei konstantem C' und variabler EA-Zahl

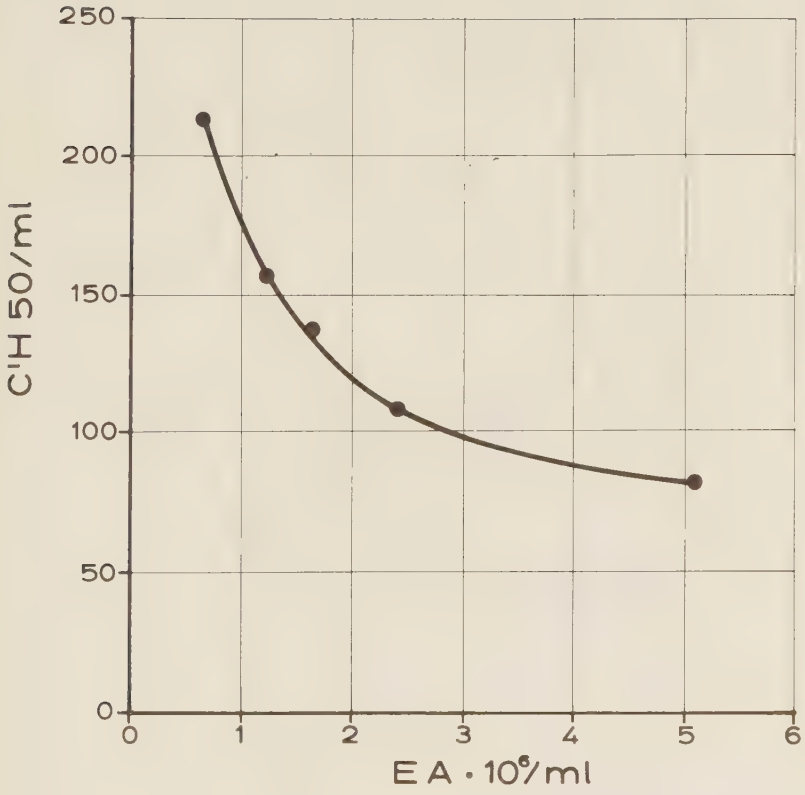


Abb.7 Die Abhängigkeit des C'-Titers (C'H 50/ml) von der EA-Zahl

Aktivitätsphase an andere Zellmembranen fixiert und können dann dort weiter zellulär agieren. Die Wahrscheinlichkeit, daß eine zeitlich begrenzt aktivierte noch nicht fixierte C'-Komponente auf eine andere Zelle trifft, nimmt bei dichterer Zellsuspension zu, womit sich erklären ließe, daß die experimentell einzusetzende Menge C', die zur Lysis einer bestimmten EA-Zahl benötigt wird, mit zunehmender EA-Zahl abnimmt.

Die Zahl aktivierter C'-Moleküle nimmt mit größeren C'-Mengen entsprechend zu, so daß bei gleicher EA-Konzentration eine größere Zahl aktivierter C'-Moleküle pro Zelle resultiert. Mit geringerer EA-Konzentration erhöht sich zwar die Zahl der aktivierten C'-Moleküle pro Zelle, jedoch sind für den schließlich lytischen Effekt nur die C'-Moleküle von Bedeutung, die unmittelbar an der Zellmembran agieren, da nur sie in ihrer zeitlich sehr begrenzten Aktivitätsphase mit einer Zellmembran zusammentreffen können. Hieraus ergibt sich dann, daß mit steigender C'-Menge die Zahl der effektiv lytisch aktiven C'-Moleküle pro Zelle mit größerer EA-Zahl auch größer wird.

Die gesamtlytische Aktivität von Rattenserum ohne Ionenzusatz zu dem Reaktions-

medium (Gelatine-Veronalpuffer) betrug 10 C'H50/ml. Zusätze von Calcium bzw. Magnesiumionen beeinflussten die Gesamt-C'-Titer desselben Serums unterschiedlich. Bei Vorliegen von Puffern mit jeweils 0,062 $Mx10^{-3}$ Calcium- bzw. 0,25 $Mx10^{-3}$ Magnesiumionenkonzentration waren die gesamtlytischen Aktivitäten optimal (Abb.8). Durch die Ionenzusätze in dieser Höhe lagen die Gesamt-C'-Titer bei Magnesiumionen ungefähr doppelt so hoch, bei Calciumionen ungefähr 75% höher als ohne Ionenzusatz.

Diesen bei jeweiliger a l l e i n i g e r Anwesenheit von Calcium- bzw. Magnesiumionen für die Gesamt-C'-Aktivität optimalen Konzentrationen wurden dann zusätzlich Magnesium- bzw. Calciumionen zugesetzt, um die jeweilige Beeinflussung der Ionen z u s a m m e n bei unterschiedlichen quantitativen Verhältnissen auf die C'-Aktivität zu verfolgen. Es ergab sich dabei, daß bei einer Magnesiumkonzentration von 0,5$Mx10^{-3}$ mit gleichzeitiger Calciumkonzentration von 0,062 $Mx10^{-3}$ die Gesamt-C'-Aktivität eines Rattenserums am größten war (Abb.9). Für alle weiteren C'-Titer-Bestimmungen bei Rattenseren wurden die Ionen in diesen Mengen den Gelatine-Veronalpuffern zur Erhaltung eines optimalen Reaktionsmilieus zugesetzt.

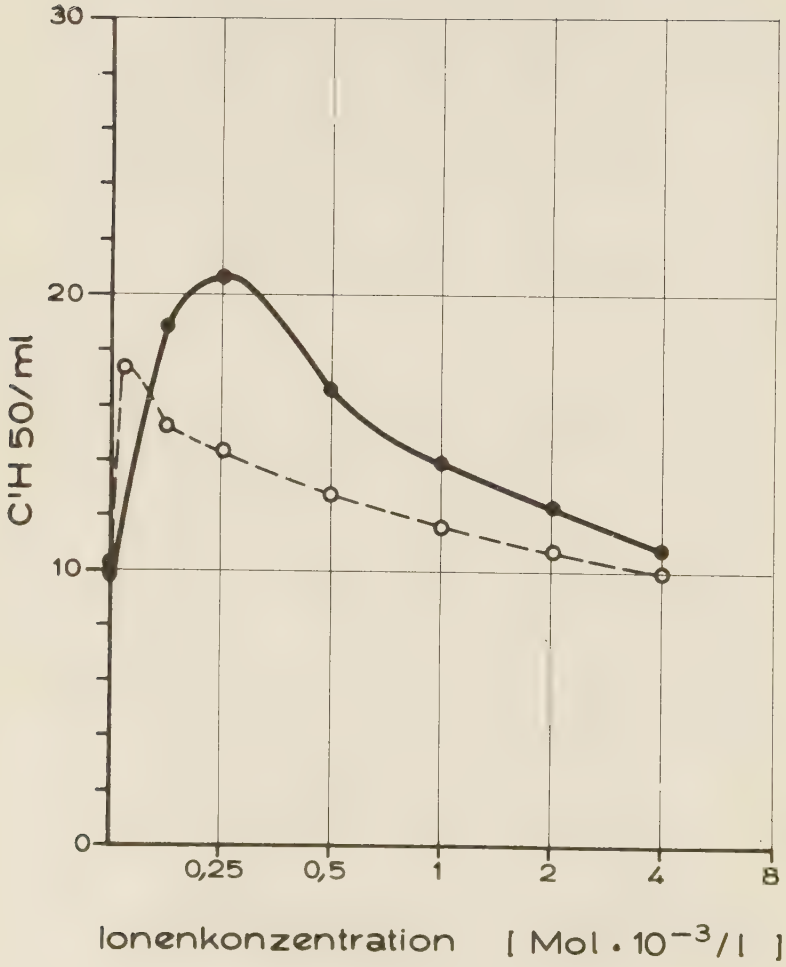


Abb.8 Abhängigkeit des C'-Titers (C'H 50/ml) von der Magnesium- (•—•—) bzw. Calcium- (-o-o-) Ionenkonzentration

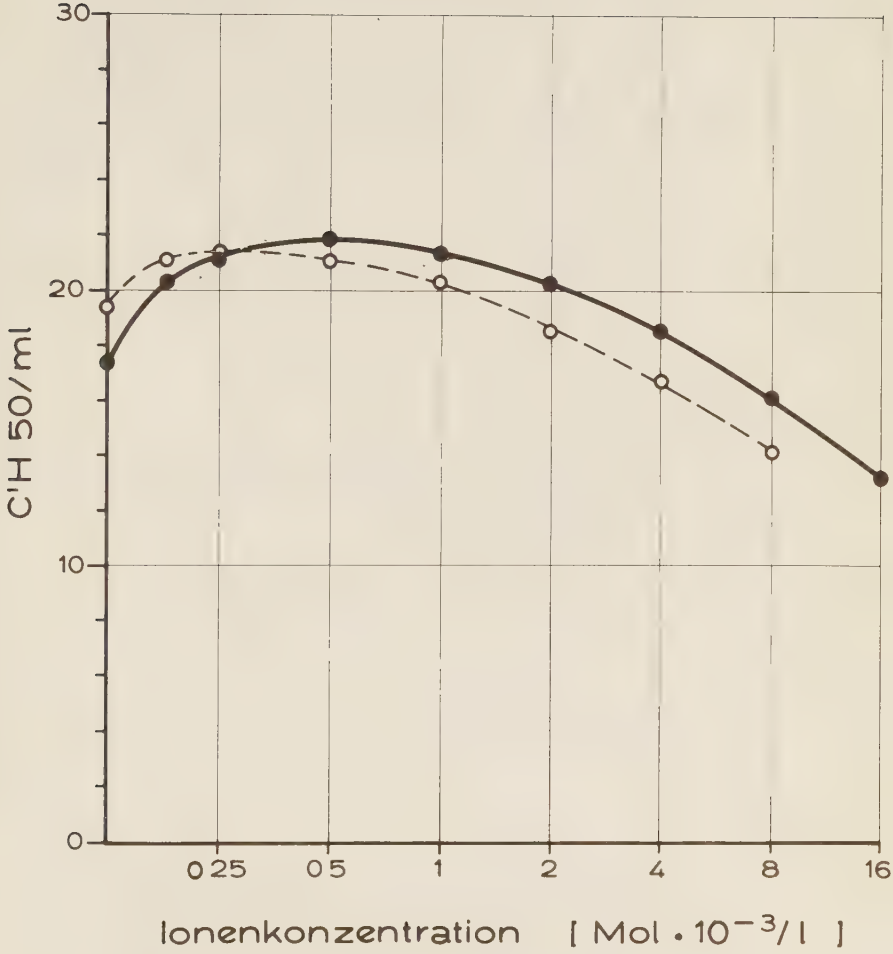


Abb.9 Abhängigkeit des C'-Titers von der Magnesium-Ionenkonzentration (—●—●—) bei optimaler Calcium-Ionenkonzentration (0,062 M x 10^{-3}/l) bzw. der Calcium-Ionenkonzentration (-○- -○- -) bei optimaler Magnesium-Ionenkonzentration (0,25 M x 10^{-3}/l)

2. Untersuchungen mit Nierenhomogenaten und anderen Organhomogenaten

Sowohl das Nierenhomogenat I (Nierenhomogenat aus dem Sediment des Nierenhomogenates) als auch das Nierenhomogenat II (Überstand des Nierenhomogenates nach Zentrifugation) veränderten die Kraft der hämolytischen Reaktion nicht, wenn sie sofort mit dem Beginn der Inkubation dem h ä m o l y t i s c h e n Reaktionssystem zugesetzt wurden (Tab.12).

Tabelle 12

C'-Titer von C'-Standard II nach sofortiger Zugabe von GVP bzw. GVP und Nierenhomogenat mit dem C'-Standard zu dem Hämolytischen System

Reaktionsansatz	C'H50/ml
EA, C', GVP	5,0
EA, C', GVP+Niere I	5,0
EA, C', GVP+Niere II	5,0

Nach vorheriger 15minütiger Inkubation der beiden Nierenhomogenate mit dem C'-Standard I zeigte sich eine Verminderung der gesamtlytischen C'-Aktivität, die nicht auftrat bei Anwesenheit von Leber- oder Lungenhomogenaten anstelle der Nierenhomogenate (Tabelle 13).

Tabelle 13 Lytischer Effekt (in prozentualer Hämolyse) eines 75% Hämolyse hervorrufenden C'-Standards nach 15minütiger Inkubation bei 37°C des C'-Standards mit den einzelnen Organhomogenaten von Meerschweinchen

Organhomogenat	Verdünnung 1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Niere I	20	41	56	71	75	75
Niere II	0	19	37	51	65	69
Leber	73	75	75	75	75	75
Lunge	73	74	75	75	75	75

Als Ursache für die Aktivitätsminderung des C' nach Inkubation mit Nierenhomogenaten ergeben sich theoretisch folgende Möglichkeiten:

1. Vorkommen von Inhibitoren in Nierenhomogenaten, die auf eine oder mehrere C'-Komponenten inaktivierend wirken.

2. Besetzung der C'-Rezeptoren an den E-Zellmembranen durch Gewebepartikel im Sinne einer Konkurrenzreaktion zweier Substrate.

3. Nicht immunologische C'-Fixation an die Gewebepartikel ohne Ingangsetzen der C'-Reaktionssequenz (bisher nicht bekanntes Phänomen).

Um zunächst die beiden letzten Möglichkeiten zu überprüfen, wurden einmal Nierenhomogenate mit EA inkubiert und anschließend der C'-Standard hinzugefügt. Weiterhin wurde C' mit den Nierenhomogenaten nach Inkubation

zentrifugiert und dem abpipettierten Überstand EA hinzugesetzt. Aus Tabelle 15 u. 16 ist zu ersehen, daß keine dieser beiden Möglichkeiten für den anti-C'-Effekt der Nierenhomogenate nach Inkubation mit C' verantwortlich ist, da die Reaktionsansätze, in denen Nierenhomogenate mit geweblichen Anteilen vorhanden waren, in keiner Weise die hämolytische Kraft des C'-Standards I beeinflussen.

Tabelle 14 Lytischer Effekt der einzelnen Reaktionsansätze (in prozentualer Hämolyse)

Reaktionsansätze				
C'-Standard I + GVP 15 Min.,37° EA	Niere I + EA 15 Min.,37° C'-St. I	Niere II + EA 15Min.,37° C'-St. I	C'-Standard I + Niere I x) 15 Min.,37° zentrifugiert Überstand EA	C'Standard + Niere II 15 Min.,37 Überstand EA
45 Min.,37°	45 Min.,37°	45Min.,37°	45 Min.,37°	45 Min.,37
75	75	75	75	0

Nierenhomogenat II wies den gleichen anti-C'-Effekt auf wie in dem vorherigen Reaktionsansatz (s. Tab. 13,14). Diese Ergebnisse führten zu der Frage, ob überhaupt die Gewebepartikel der Niere per se ausschlag-

x) Nierenhomogenat I nach dreimaligem Waschen mit GVP

gebend sind für die C'-Aktivitätsminderung. Deshalb wurde ein Nierenhomogenat 5 Minuten bei 4000 rpm zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und aufgefangen und das Sediment als 10%ige Suspension wieder in GVP aufgenommen. Dieser Waschvorgang wurde mehrere Male wiederholt. Die Überstände und die wiederum in GVP aufgenommenen Nierenhomogenate wurden jeweils auf ihre anti-C'-Wirkung überprüft. Wie aus den Tabellen 15 und 16 ersichtlich, ergab sich dabei, daß der Überstand eines Nierenhomogenates nach einmaliger Zentrifugation einen anti-C'-Effekt aufweist, der ungefähr dasselbe Ausmaß hat wie der eines gesamten Nierenhomogenates. Nach der zweiten Zentrifugation verschwindet dieser Effekt fast vollständig und nach der dritten völlig.

Tabelle 15 Lytischer Effekt (in proz. Hämolyse) von C'-Standard I nach Vorinkubation für 15 Min. bei 37°C mit ungereinigtem und gewaschenem Nierenhomogenat

Zentrifugation	Verdünnung der Nierenhomogenate 1/1	1/2	1/4	1/8	C'-St.I
-	0	21	40	54	75
1.	20	44	58	74	75
2.	72	75	75	75	75
3.	75	75	75	75	75

Tabelle 16 Lytischer Effekt (in proz.Hämolyse) von C'-Standard I nach Vorinkubation für 15 Min. bei 37°C mit den Überständen von einem Nierenhomogenat während seiner Waschung

Zentrifugation	Verdünnung der Nierenhomogenatsüberstände 1/1	1/2	1/4	1/8	C'-Standard I
1.	0	19	37	51	75
2.	73	75	75	75	75
3.	75	75	75	75	75

Zudem wurde der Einfluss auf C' von einmal gewaschenem und anschließend 5 Min. mit Ultraschallwellen behandeltem Nierenhomogenat untersucht. Das beschallte Nierensubstrat blieb dabei - wie Tab. 17 zeigt - ohne Einfluss auf die gesamtlytische Aktivität.

Tabelle 17 Lytischer Effekt von einmal gewaschenem Nierenhomogenat nach Beschallung und Vorinkubation mit C'-Standard I

Reaktionsansatz	proz. Hämolyse
C'-Standard I	75
C'-St.I + beschallte Niere	75

Damit konnte sichergestellt werden, daß der C' inaktivierende Faktor nicht zellulär gebunden ist, da sowohl gewaschene Nierenhomogenate als auch die nach Beschallung völlig zerstörten Zellen die lytische Aktivität eines C'-Systems nicht beein-

flussten. Das antikomplementär wirkende Substrat ist also in dem Überstand des Zentrifugats eines Nierenhomogenates vorhanden. Alle weiteren Untersuchungen wurden deshalb allein mit diesem Überstand (= Nierenhomogenat II) durchgeführt.

Das nach Inkubation mit Nierenhomogenat-Überstand defekte C'-System (= C'N) wurde mit verschiedenen stufenweise persensibilisierten EA inkubiert, um zu ersehen, welche C'-Komponenten in C'N noch vorhanden sind.

In einleitenden Untersuchungen wurden die hergestellten Intermediärprodukte mit bekannten defekten C'-Präparationen inkubiert, um die Eigenschaften der mit C'-Aktivitäten beladenen EA zu kontrollieren. Aus Tab. 18 ist ersichtlich, daß die Zellen nach Überprüfung unter diesen Bedingungen auch die gewünschten Eigenschaften aufwiesen.

Tabelle 18 Lytischer Effekt von C'-Präparaten nach Inkubation mit sensibilisierten und persensibilisierten EA

Zellen	Zusatzreagentien R 1	R 4	R 2	C'-Cobra	C'h56	C'h62	C'	GVP
EA	0	0	0	0	0	0	+++	0
EAC'1	+++	0	0	0	0	0	+++	0
EAC'1,4	+++	+++	0	0	0	0	+++	0
EAC'4	0	+	0	0	0	0	+++	0
EAC'1,4,2	+++	+++	+++	0	0	0	+++	0
EAC'1,4,2,3a	+++	+++	+++	0	0	0	+++	0
EAC'1,4,2,3a,b,α,β	+++	+++	+++	+++	0	0	+++	0

+++ = 100% Hämolyse nach 10 minütiger Inkubation
0 = weniger als 5% Hämolyse nach 30 minütiger Inkubation

Tabelle 19 Lytischer Effekt von C'N nach Inkubation mit zellulären Intermediärprodukten

	EAC'1	EAC'4	EAC'1,4	EAC'1,4,2	EAC'1,4,2,3a	EAC'1,4,2, 3a,b,α,β	EA
C'N	0	0	0	+++	+++	+++	0

Wie aus Tab. 19 zu entnehmen ist, wurden EAC'1,4,2-Zellen und alle weiteren zusätzlich mit C'3-Untereinheiten persensibilisierten Zellen von C'N völlig hämolysiert, während die präparierten Zellen, die lediglich mit C'1 bzw. C'4 persensibilisiert waren, nach Inkubation mit C'N überhaupt keine Hämolyse aufwiesen. In C'N ist folglich die C'2-Aktivität defekt, während alle C'3-Aktivitäten intakt

vorliegen. Ob C'N auch C'1 und/oder C'4 enthält, läßt sich nach diesen Versuchen nicht entscheiden, da immer erst EAC'1,4,2-Zellen von C'2-defektem Serum lysiert werden, unabhängig davon, ob C'1 und C'4 in diesem Serum nun vorhanden sind oder fehlen. Daher wurde C'N mit C'-Präparaten kombiniert, die genau umrissene Lücken aufwiesen, und der lytische Effekt dieser Kombinationen in Abhängigkeit der Zeit verfolgt. Das mit dem Nierenhomogenat II inkubierte C'-System war dabei so verdünnt, daß es etwa 5 C'H50 aufwies.

Aus Abb. 10 ist zu entnehmen, daß C'-Präparate mit jeweils ausschließlichem C'1,C'4 und C'3a,b-Defekt nach Kombination mit C'N ebenso lytisch aktiv sind wie ein unbehandeltes C'-System mit ca. 5 C'H50/ml. Dagegen ist C'N alleine ebenso wenig lytisch aktiv wie nach Kombination mit einem C'2-defekten C'-System. Auch C'h56 und C'h62-Präparate, in denen neben verschiedenen einzelnen C'3-Aktivitäten auch C'1 und C'2 fehlen, vermögen den Aktivitätsverlust in C'N nicht zu decken. Der Verlust der gesamtlytischen Aktivität von C'N resultiert folglich aus seiner defekten C'2-Aktivität. In Tab. 20 ist das Produkt nach Kombination von C'N mit defekten C'-Systemen schematisch dargestellt.

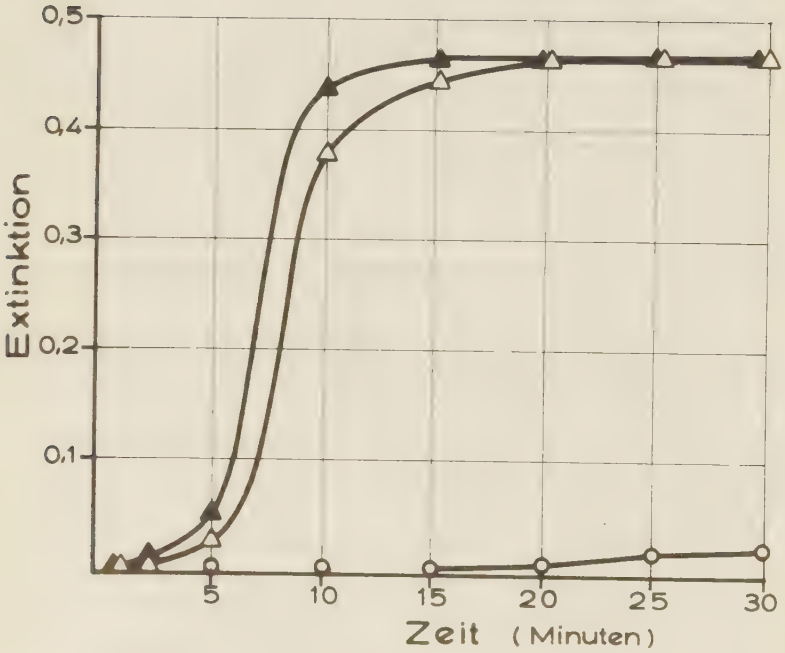


Abb.10 Lytische Effekte in Abhängigkeit der Zeit nach Kombination von C'-Niere mit jeweils einem R1-, R4- bzw. R 3a, b Serum (▲——▲), sowie von C'-Niere und nach Kombination von C'-Niere mit jeweils C'h 56, C'h 62 bzw. einem R 2-Serum (○——○) im Vergleich zu einem unbehandelten C'-System (△——△)

Erläuterung der Symbole im Text.

Tabelle 20 Schema zur Darstellung der lytischen Effekte nach Kombination von C'-Präparaten

C'-Präparat	lytische Effekte nach Kombination	
R 2	1 4 3a 3b 3α 3β 3c 3d	} 0
C'N	1 4 3a 3b 3α 3β 3c 3d	} 0
R 4	1 2 3a 3b 3α 3β 3c 3d	} +++

3. Untersuchungen mit lebenden isolierten Nieren- und Leberzellen und Nierenzellkulturen

Die Lahn-Medien, in denen isolierte, lebende Nieren- bzw. Leber-Zellsuspensionen bis zu 48 Std. stoffwechselaktiv waren, beeinflussten die hämolytische Aktivität des C'-Standards I (= C'-St.I) nicht (Tab.21). Auch nach Mischen von C'-Standard III (= C'-St.III) mit Nieren- oder Leber-Zellsuspensionen und 15 oder 30 minütiger Inkubation bei 37°C im Wasserbad zeigte der jeweilige C'-Standard-Titer keine Änderung gegenüber dem Ausgangstiter (s.Tab.22).

Ebenso blieb die gesamtlytische Aktivität des C'-Standard III nach Inkubation mit Affennieren-Zellkulturen unbeeinflusst (Tab.23). In gleicher Weise hatten auch Medien, in denen die Affennieren-Zellkulturen bis zu 48 Std. kultiviert waren, trotz geringer p_H-Verschiebung zur sauren Seite hin keinen antikomplementären Effekt (Tab.24).

Tabelle 21 in vitro-Beeinflussung der gesamtlytischen Aktivität durch Affennieren-Zellkulturen

Inkubationszeit (Minuten)	C'H50/ml des C'-St.III nach Inkubation mit Nieren-Zellkulturen	C'H50/ml des C'-St.III nach Inkubation mit Lahn-Medium (Kontrolle)
0	22.0	22.0
15	22.0	22.0
30	21.5	21.5
60	21.5	21.5

Tabelle 22 Beeinflussung der hämolytischen C'-St.I-Aktivität durch Medien von Nieren-Zellkulturen

Inkubationszeit	p_H des Mediums	Hämolyse in %
0 Min.	7.20	75.0
15 Min.	7.15	74.5
30 Min.	7.15	75.5
60 Min.	7.10	75.0
48 Std.	6.90	74.5

Tabelle 23 Lytische Effekte der Reaktionsansätze
Bei C'-Standard I wurden jeweils alle Ansätze mit diesem für 15 Min. vorinkubiert.

Reaktionsansatz	proz. Hämolyse
GVP	0
Lahn	0
GVP + C'-St.I	80
Lahn + C'-St.I	80
Lahn + Niere (12 Std.) + C'-St.I	80
Lahn + Niere (24 Std.) + C'-St.I	80
Lahn + Leber (12 Std.) + C'-St.I	80
Lahn + Leber (24 Std.) + C'-St.I	80

Tabelle 24 C'-Titer nach Einwirken von lebenden Parenchymzellen in Lahnscher-Lösung auf C'-Standard III

Reaktionsansatz	C'H50/ml
GVP	22.0
GVP + C'-St.III	22.0
Lahn + C'-St.III	22.0
Lahn + Niere + C'-St.III (15 Min.)	22.0
Lahn + Niere + C'-St.III (30 Min.)	22.0
Lahn + Leber + C'-St.III (15 Min.)	22.0
Lahn + Leber + C'-St.III (30 Min.)	22.0

4. Prärenale und postrenale C'-Titer

Nach den in vitro-Untersuchungen wurde nun zur Abklärung der Frage nach der in vivo-Bedeutung des in vitro auftretenden antikomplementären Effektes von Nierenhomogenat II der C'-Gehalt im Serum des praerenalen arteriellen und postrenalen venösen Gefäßbereiches vergleichend bestimmt.

In Tab. 25 sind die Gesamt-C'-Titer der Seren aus den verschiedenen Gefäßregionen aufgeführt. Daraus ergeben sich jeweils gleich hohe gesamtlytische Aktivitäten im praerenalen Aortenblut bzw. im Blut der vena renalis der einzelnen Probanden. Die C'-Titerdifferenz von 0,5 C'H50/ml zwischen dem Aortenblut und der renalen Venenblutprobe bei den Patienten A.M. und H.B. liegt noch im Bereich der technischen Fehlerbreite. Zwischen vena renalis dextra und sinistra waren erwartungsgemäß auch keine unterschiedlichen Titer zu ermitteln. Auffallend sind die durchweg erhöhten Titer im Serum der vena hepatica der untersuchten Probanden. Peripherven öses Blut entspricht in seinem C'-Titer im wesentlichen dem des Aortenblutes. Auch nach Vorinkubation aller Seren während 15 sowie 30 Minuten bei 37°C zeigten die anschließend ermittelten C'-Titer die gleichen Werte, nach 90 Min. die gleichen Relationen. Die jeweiligen Titer der vier klassischen C'-Komponenten

Tabelle 25 C'-Titer (C'H50/ml) von Serumproben verschiedener Gefäßregionen

Patient	V. renalis dextra	V. renalis sinistra	Aorta	V. hepatica	peripher venös
A.M.	8.5	-	8.0	9.5	-
W.V.	12.0	-	12.0	21.0	12.5
H.D.	14.0	-	14.5	16.0	14.5
I.Sch.	14.5	14.5	14.5	19.0	15.0
R.C.	13.5	-	13.5	17.0	14.0
K.B.	13.5	13.5	13.5	16.5	15.5

bei den einzelnen Seren (Tab. 26) verhalten sich zueinander unterschiedlich. Die C'2-Titer sind durchweg am niedrigsten. Beim Vergleich der jeweiligen genannten Komponenten-Titer in gleichen Serumproben bei verschiedenen Probanden, sind wesentliche Unterschiede nicht festzustellen(Tab.27).

5. C'-Titerverlauf bei der Str.faec.-Pyelonephritis der Ratte

Zu jedem Zeitpunkt während der Beobachtungszeit ließen sich direkt aus den Nieren der mit Str.faecalis infizierten Ratten diese Keime wiederum züchten, während sich aus Leber und Milz der untersuchten Tiere schon 3-5 Wochen post infectionem direkt keine Keime züchten ließen. Im direkten Blutausstrich der infizierten Tiere auf Blut- und Endo-Platten waren schon ca. 12 Std. post infectionem keine Keime mehr nachweisbar. Somit konnte die ausschließliche Infektion der Niere nach Injektion von Str.faecalis-Keimen auch mit diesen Methoden sichergestellt werden.

25 Wochen nach Setzen der Infektion wiesen einige Tiere nur an einer ihrer Nieren makroskopisch sichtbare entzündliche Veränderungen auf, während die andere normal aussah und steril war.

Makroskopisch zeigten sich die Nieren wenige Tage nach Setzen der Infektion geschwollen. Nach ca. 1 Woche wiesen sie gruppenförmig

Tabelle 26 C'-Komponenten-Titer von Seren aus verschiedenen Gefäßregionen (vergl. Tab. 1)

Patient	Serumprobe	C'-Komponenten C'1	C'4	C'2	C'3a,b §
A.M.	Vena hepatica	300	200	10	10
W.V.		400	600	60	50
H.D.		400	500	30	37.5
I.Sch.		400	500	50	50
R.C.		400	600	30	40
K.B.		300	400	20	50
A.M.	peripher venös	-	-	-	-
W.V.		200	400	20	20
H.D.		300	500	20	37.5
I.Sch.		300	500	20	50
R.C.		400	600	20	40
K.B.		400	600	20	50
A.M.	Vena renalis	200	200	10	10
W.V.		300	300	15	37.5
H.D.		300	500	20	37.5
I.Sch.		300	500	20	50
R.C.		300	500	20	37.5
K.B.		300	400	15	50
A.M.	Aorta	n.t. §§			
W.V.		200	300	15	20
H.D.		400	600	20	37.5
I.Sch.		300	500	20	50
R.C.		300	500	20	37.5
K.B.		300	400	15	37.5

§ Nomenklatur nach KLEIN

§§ nicht bestimmt

Tabelle 27 C'-Titer aus Serumproben verschiedener Gefäßregionen beim Kaninchen

Serumprobe aus	C'H50/ml Tier 1	Tier 2	Tier 3
Ohrvene vor Narkose	3.5	4.5	3.5
Ohrvene nach Narkose	4.0	4.5	3.5
Vena renalis	3.5	4.5	3.5
Aorta	3.5	4.5	3.5

angeordnete, punktförmig kleine, später dann größere Abszesse auf den corticalen Oberflächen auf. Nach ungefähr 15 Wochen waren auf den Nierenoberflächen unregelmäßig verteilte narbige Einziehungen sichtbar. Die Kapsel war durchweg nur schwer abziehbar. Bei einigen Tieren konnten 25 Wochen nach Infektionsbeginn Verwachsungen zwischen rechtem Leberlappen und rechter Niere beobachtet werden.

Die C'-Titer der mit 1 ml Str.faecalis-Suspension ($12x10^8$/ml) infizierten Wistar-Ratten zeigten sich eine halbe Stunde post infectionem um ca. die Hälfte auf 10 C'H 50/ml$\pm$2 gegenüber den Norm-C'-Titern der Kontrolltiere vermindert. Diese Gesamt-C'-Erniedrigung dauerte an bis zu 12 Std. nach Keiminjektion. 24 Std. nach Setzen der Infektion wiesen die Seren der infizierten Tiere dagegen einen gegenüber der Norm nur geringfügig erniedrigsen C'-Gehalt auf (Abb.12).

Unterschiedlich, aber bei allen infizierten Tieren einheitlich, verhielten sich die C'-Titer in der weiteren akuten Phase der Infektion. Vom 2. bis zum 5. Tag bewegten sich die Mittelwertsverlaufskurven von Gesamt-C' in einem Bereich von 12 bis 14 C'H50/ml, um dann anzusteigen bis zu einem an der unteren Grenze des Normbereichs befindlichen C'-Titer,

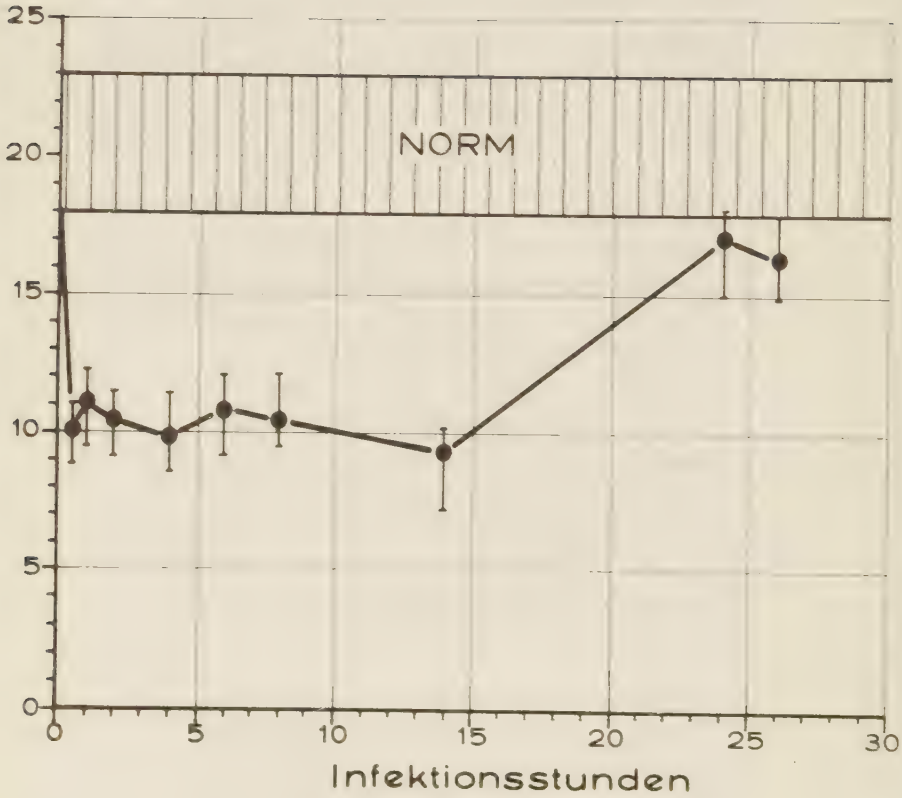


Abb.12 C'-Titerverlauf bei Ratten nach Injektion von Strept.faecalis in der akuten Entzündungsphase

der sich acht Tage nach Infektionsbeginn zeigte. In den dann folgenden Tagen tendierte diese Kurve zu niedrigeren Werten. Vom 11. Tag an bis zu 9 Wochen post infectionem lagen die Mittelwerte für die gesamtlytische Aktivität der infizierten Tiergruppen zwischen 15 und 12 C'H50/ml. Ihre Erniedrigung in diesem Zeitraum war also weniger ausgeprägt als die in den ersten Stunden (Abb.13). Nach zehnwöchiger Infektionsdauer überlagern sich die C'-Titer der Infekttiere mit denjenigen der Kontrolltiere. Auch in der weiteren Beobachtung bis zu 26 Infektionswochen zeigten die Gesamt-C'-Aktivitäten im peripheren Serum der pyelonephritischen Tiergruppen keine eindeutigen Abweichungen gegenüber Kontrolltieren (Abb.14). In Abweichung gegenüber Kontrolltieren ergeben sich also bei den mit Str.faecalis infizierten Tieren in der Verlaufskurve ihrer Gesamt-C'-Mittelwerte drei verschieden stark ausgeprägte "Täler": zunächst unmittelbar nach Infektionsbeginn für ungefähr 12 Stunden, dann nach 2 Tagen mit einer Dauer von 3 Tagen in der akuten Infektionsperiode und wiederum nach 11 Tagen für die dann folgenden 7 Wochen.

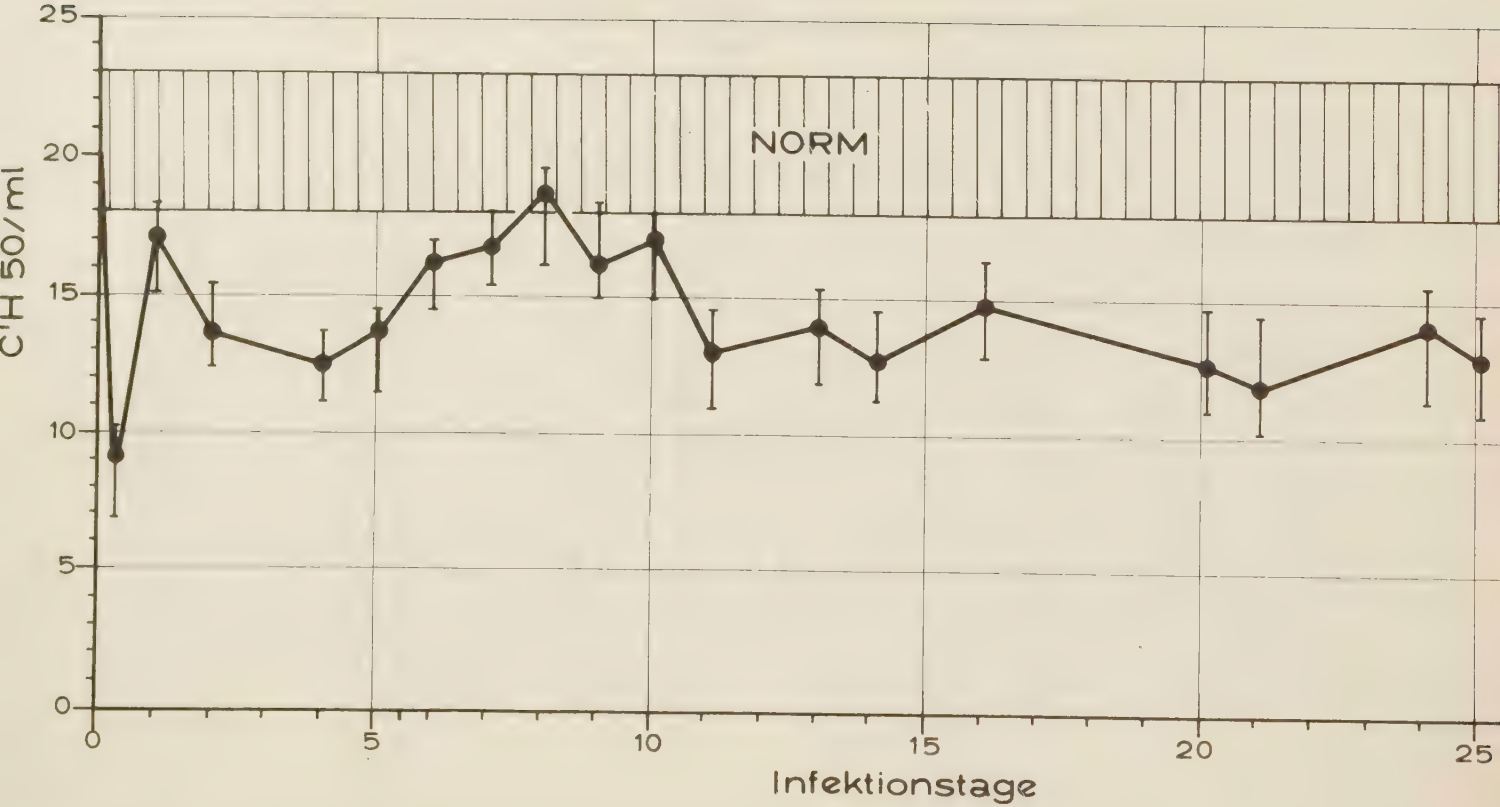


Abb.13 C'-Titerverlauf bei Ratten nach Injektion von Strept.faecalis in der akuten Entzündungsphase

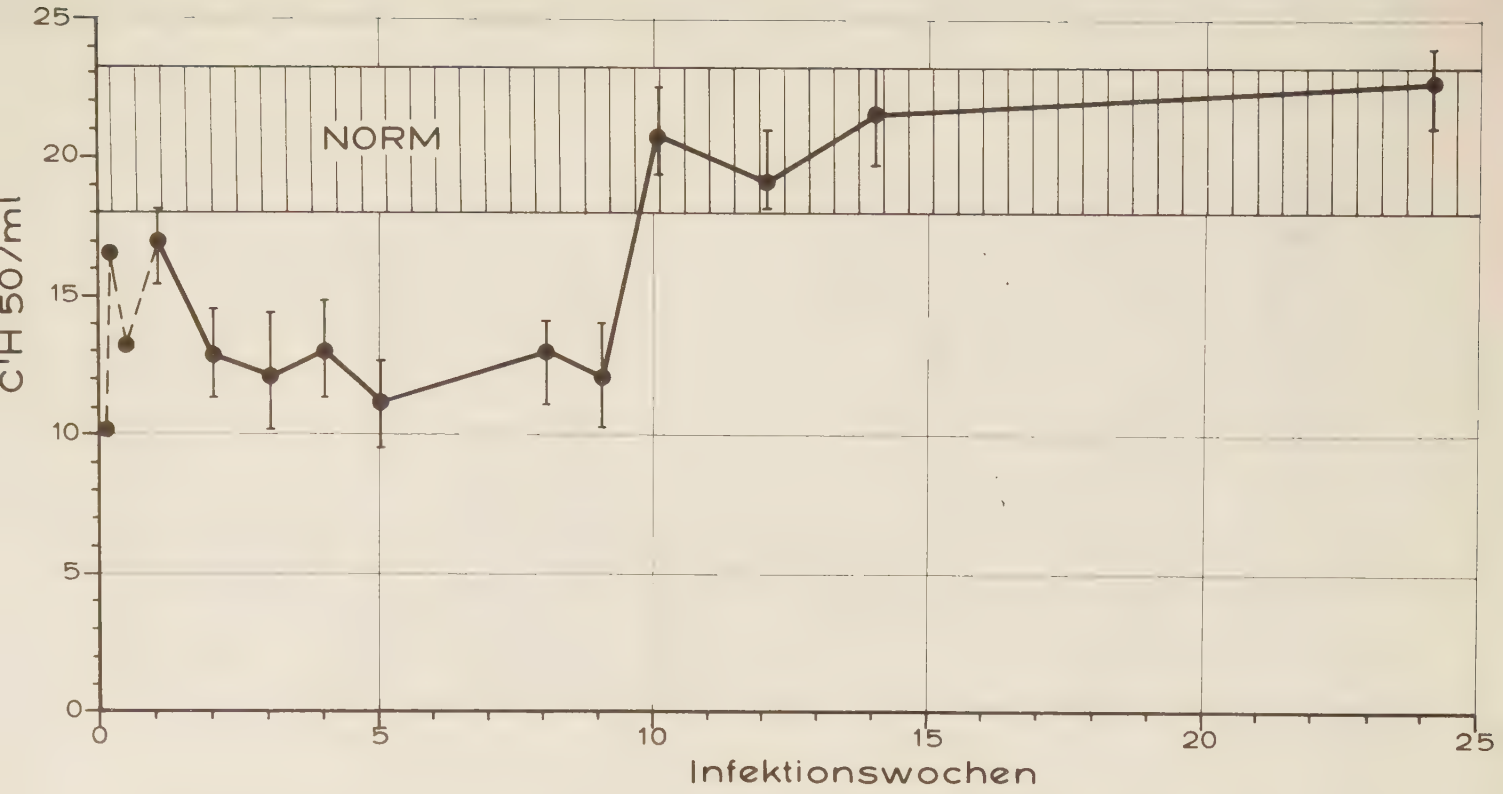


Abb.14 C'-Titerverlauf bei Ratten nach Injektion von Strept.faecalis in der chronischen Entzündungsphase

6. C'-Titer bei Patienten mit chronischer Pyelonephritis und Kontrollpersonen

In Tab. 28 sind die klinischen Diagnosen, die Ergebnisse der unspezifischen bakteriologischen Diagnostik, zusammen mit Kreatininwerten und C'-Titern der Patienten im einzelnen aufgeführt. Aus Abb. 15 ist die Verteilung der C'-Titer bei 75 gesunden Kontrollpersonen zu ersehen. Sie schwanken zwischen 9 und 20 C'H50/ml bei Anwendung von 2,4 x 10^6EA/ml (dies entspricht für 100% Hämolyse im Ansatz zur C'-Bestimmung nach Mischung gleicher Teile Hämolysat und Transformationslösung einer optischen Dichte von 1,30 bei 546 mμ). Die Mehrzahl der Probanden wiesen dabei 12 bzw. 13 C'H50/ml auf.

Bei den Patienten mit chronischer bakterieller Nephritis unter Beteiligung des Pyelons ohne stärkere Niereninsuffienz (Kreatinin bis zu 2,5 mg%) schwankten die C'-Titer zwischen 8 und 22 C'H50/ml, wobei sich ihre Mehrzahl um 14 C'H50/ml gruppierte (Abb.16).

Tabelle 28 Klinische Diagnosen, Kreatininwerte, Befunde der unspezifischen bakteriologischen Diagnostik und C'-Titer von Patienten mit chronischen Harnwegsinfekten.

Fall	Patient Initialen	klinische Diagnose	Kretinin (mg %)	unspezifische Urinkultur	C'-Titer (C'H50/ml)
1	K.B.	chron.PN	1.5	kein Wachstum	15.0
2	P.B.	chron.PN	1.8	Proteus	14.5
			1.7		13.5
3	G.D.	chron.PN Nephrolithiasis	2.4	E.coli	11.0
				E.coli	10.5
				E.coli	11.0
				E.coli	16.5
				Klebsiella	14.5
				E.coli	14.0
4	E.F.	chron.PN	1.0	E.coli Enterokokken	14.0
				E.coli Keim d.Coligruppe	10.0
5	M.F.	chron.PN	1.2	kein Wachstum	14.0
				kein Wachstum	13.0
				Enterokokken	14.0
6	U.G.	chron. Cysto-PN mit prävesikaler Einflußstauung	0.7	E.coli	12.0
				E.coli	15.0
7	W.H.	chron.PN	3.7	E.coli	28.5
				E.coli	20.5
				E.coli Klebsiella	26.5
				E.coli	27.0
8	T.H.	chron.PN und Nierenaplasie inks	0.9	Staph.aureus Providencia	14.5
					12.0

Fall	Patient Initialen	klinische Diagnose	Kretinin (mg %)	unspezifische Urinkultur	C'-Tite (C'H50/m
9	D.L.	chron.PN	4.8	Staph.albus	10.5
10	A.L.	chron.PN	3.0	kein Wachstum	28.5
			- 3.8	kein Wachstum	25.0
11	E.M.	chron.PN	0.8	E.coli	16.5
				E.coli	14.0
12	H.O.	chron.PN	2.1	kein Wachstum	20.5
					19.0
					13.0
					13.5
					13.0
13	E.S.	chron.PN	1.2	E.coli	18.0
14	D.S	chron.PN	1.2	Proteus	16.5
15	C.S.	chron. Cysto-PN	1.2	kein Wachstum	14.5
16	M.Z.	chron.PN	1.2	Proteus	18.5
17	S.B.	chron. Cysto-PN	0.8	E.coli	15.0
				E.coli	16.0
				E.coli	20.0
				E.coli	17.5
				E.coli	16.0
18	A.B.	chron. Cysto-PN	1.1	Enterokokken	14.5
				Klebsiella	14.5
				Klebsiella	15.5
					13.5
				Streptokokken	12.0
19	K.E.	chron. Cysto-PN	1.2	Enterokokken Staph.albus	8.0
				Enterokokken E.coli	9.5
20	H.H.	chron. Cysto-PN	1.2	Enterokokken	14.0
				E.coli	13.5

Fall	Patient Initialen	klinische Diagnose	Kreatinin (mg %)	unspezifische Urinkultur	C'-Titer (C'H50/ml)
21	I.H.	chron. Cysto-PN	1.2	E.coli	11.0
				E.coli	11.0
22	I.J.	chron. Cysto-PN	0.8	E.coli Enterokokken	22.0
				E.coli Cloaca	21.0
23	V.K.	Cysto-PN mit rezidivierenden Cystitiden	1.2	E.coli	6.5
				E.coli	5.0
				E.coli	5.5
24	A.S.	chron.rezidivierende Cystitis	1.3	Streptokokken	10.5
25	R.S.	chron.rezidivierende Cystitis	1.2	Staph.albus	14.5

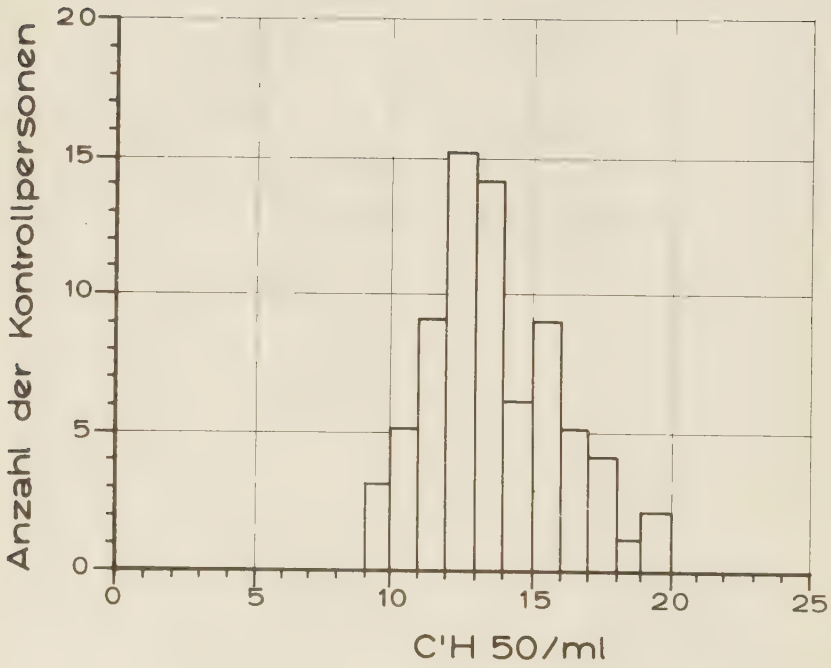


Abb.15 C'-Titer bei 75 gesunden Personen

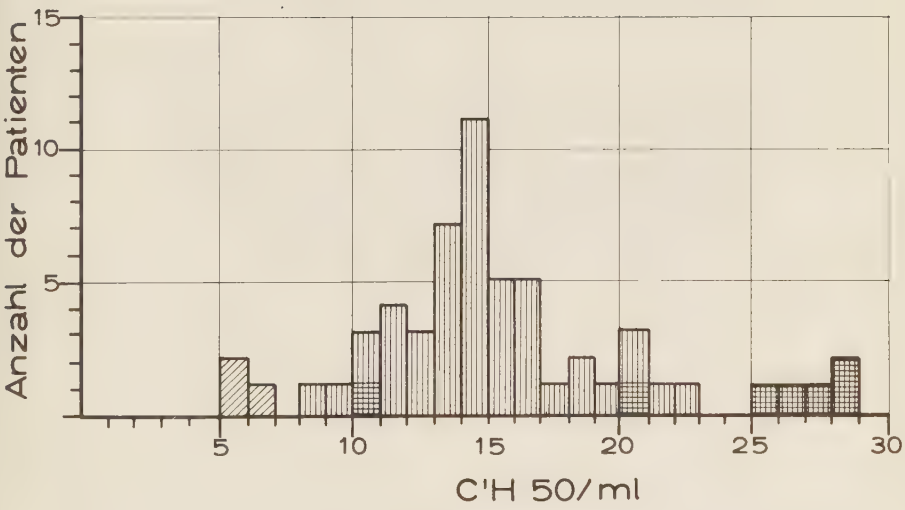


Abb.16 C'-Titer bei Patienten mit chronischer Pyelonephritis ohne Zeichen der Niereninsuffizienz (▥) und mit Zeichen der Niereninsuffizienz (▦) sowie mit akuten Harnwegsinfekten (▨)

Bei der Patientengruppe mit chronischer Pyelonephritis im Stadium der Niereninsuffizienz (Kreatinin 3,0 - 3,8 mg%) fanden sich demgegenüber erhöhte C'-Titer (Abb.16). Lediglich ein Patient dieser Gruppe (Fall 9) mit erheblichen Insuffizienserscheinungen bei Kreatinin- und Harnstoff-Werten von 4,8 bzw. 70 mg% wies einen niedrigeren Titer auf.

Die C'-Titer mit chronischen bakteriellen rezidivierenden Cystitiden ohne Nierenbeteiligung, die zunächst unter Verdachtsdiagnose Pyelonephritis eingewiesen worden waren, lagen dagegen in einem gegenüber der Norm niedrigeren Bereich.

D. DISKUSSION

Die Ergebnisse, die bei den Untersuchungen über die Wirkung von Organhomogenaten auf das C'-System gewonnen wurden, stehen in einigen grundsätzlichen Punkten nicht im Einklang mit den Befunden von BEESON und ROWLEY (1959). Das Nierengewebe soll nach BEESON und ROWLEY unmittelbar in seiner Funktion als Ammoniakproduzent durch Inaktivierung von C'4 die Gesamt-C'-Aktivität mindern und dadurch die erhöhte Infektanfälligkeit der Niere begründen. Wie aus Tab. 13 hervorgeht, limitieren Nierenhomogenate tatsächlich im Gegensatz zu Leber- bzw. Lungenhomogenaten nach Inkubation mit einem C'-System dessen lytische Aktivität.

Wie weitere Untersuchungen ergaben (Tab.14), resultiert dieser antikomplementäre Effekt aus dem Vorhandensein von C'-Inhibitoren, da Nierengewebepartikel weder im Sinne einer Konkurrenzreaktion zweier Substrate die C'-Receptoren an den E-Membranen besetzen, noch sonst auf andere Weise intaktes C' fixieren.

Voll wirksam wird der C'-Inhibitor erst nach 15-minütiger Vorinkubation von C' mit dem Nierenhomogenat. Ohne Vorinkubation kommt seine antikomplementäre Wirkung nicht zum Tragen, da die von ihm inaktivierbare C'-Komponente schon unbeeinträchtigt zu einem Zeitpunkt innerhalb der C'-Reaktions-

sequenz reagiert hat, bevor überhaupt ihre Aktivität geschädigt werden konnte.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von BEESON und ROWLEY war der C' inaktivierende Faktor allein im Ü b e r s t a n d von zentrifugierten Nierenhomogenaten aufzufinden. Mit Veronalpuffer gewaschene Nierenhomogenate zeigten k e i n e n antikomplementären Effekt.

Da die in einem Organhomogenat vorliegenden behandelten Zellen kaum als physiologisch vollwertige Organzellen angesprochen werden können, ist es denkbar, daß der antikomplementär wirkende Faktor intra vitam als Produkt der intakten Nierenparenchymzelle anfällt. Ein als Produkt der Nierenparenchymzelle anfallendes anti-C' Substrat müßte dann auch in vitro von isolierten lebenden Nierenzellen produziert werden. Es zeigte sich jedoch, daß lebende Nierenzellen und Nierenzellenkulturen keinen Einfluss auf die gesamtlytische Aktivität eines C'-Systems ausübten. Auch Medien, in denen die Zellsuspensionen bzw. Zellkulturen bis zu 48 Std. kultiviert und somit stoffwechselaktiv waren, blieben trotz geringer p_H-Verschiebung ohne anti-C'-Effekt. Im Falle des intrazellulären Gebundenseins des C' inaktivierenden Agens wäre eine Vergrößerung des anti-C'-Effektes bei völliger Zertrümmerung der Nierenparenchymzellen zu erwarten. Mit Ultraschall-Wellen behandeltes, einmal

gewaschenes Nierenhomogenat blieb jedoch ohne Einfluss auf die lytische Aktivität eines C'-Systems.

Der antikomplementäre renale Faktor ist folglich nicht an die Nierenparenchymzelle gebunden und wird auch in vitro von ihr nicht produziert. Auch bei Anwendung hochempfindlicher Systeme, wie sie im methodischen Teil aufgeführt sind, ließen lebende Nierenzellen keine Effekte auf die gesamtlytische Aktivität erkennen.

Bei ihren Untersuchungen zur Bestimmung der C'-Komponenten, die in ihrer Aktivität durch Nierenhomogenate beeinträchtigt werden, benutzten BEESON und ROWLEY (1959) lediglich R-Seren. Dabei ergab sich, daß das nach Inkubation mit Nierenhomogenat gesamtlytisch nicht mehr aktive C' (= C'-Niere) nach Kombination mit Ammoniak behandelten Seren (= C'-Ammoniak) keine, nach Kombination mit Zymosan behandeltem Serum (= C'-Zymosan) 60%, nach Kombination mit hitzeinaktiviertem Serum (C'-Hitze) 20% Hämolyse der dem Reaktionssystem zugesetzten EA hervorrief, wobei die proz. Hämolyse nur visuell abgelesen wurde. Ungeachtet der Unmöglichkeit, die prozentuale Hämolyse exakt visuell festzustellen, sahen BEESON und ROWLEY bei der Interpretation ihrer Ergebnisse in der 20 bzw. 60%igen Hämolyse der obigen Reaktionssysteme eine Wiederherstellung der lytischen Aktivität des defekten

C'-Nieren-Präparates. Da die Zugabe von C'-Ammoniak zu C'-Niere nichts an dessen gesamtlytischem Verlust änderte, schlossen sie auf einen alleinigen C'4 Defekt von C'-Niere.

Die eigenen Untersuchungen zeigen dagegen, daß die C'2-Aktivität von C'-Niere defekt ist. Das C'-Niere-Präparat vermag nicht EAC'1 bzw. EAC'1,4, wohl aber EAC'1,4,2, und EAC'1,4,2,3a,b-Zellen innerhalb kurzer Zeit vollständig zu lysieren. Die fehlende C'2-Aktivität in C'-Niere läßt erwartungsgemäß nach Zugabe von EAC'1 oder EAC'1,4-Zellen keine Aktivierung der in C'-Niere vollzählig vorhandenen C'3-Aktivitäten zu.

Weiterhin wurde der lytische Effekt in Abhängigkeit der Zeit beobachtet nach Zusammenfügen von C'-Niere mit C'-Präparaten, die einen jeweils ausschließlichen C'1, C'4, C'2 bzw. C'3a, b - Defekt aufwiesen. Da lediglich Seren mit C'2-Defekt keine Wiederherstellung der gesamtlytischen Aktivität von C'-Niere herbeiführten, muss auf einen alleinigen C'2-Defekt in C'-Niere geschlossen werden. C'4 zeigte sich in keiner Weise nach Inkubation mit Nierenhomogenat in seiner Aktivität beeinträchtigt.

Da BEESON und ROWLEY keine Intermediärprodukte herstellten und auch keine kinetischen Untersuchungen mit Defektseren unternahmen,

um mit diesen zwei Methoden die Lokalisation des Defektes innerhalb des C'-Systems zu ermitteln, sondern nur die lytischen Effekte nach Mischen von R-Seren mit C'-Niere verfolgten, ist es wahrscheinlich, daß ihre R-Seren neben den gewünschten auch andere Defekte aufwiesen, was zu nicht reproduzierbaren Ergebnissen führte.

C'-Niere verliert wegen der defekten C'2-Aktivität in vitro auch seine bakterizide Wirkung. Dieser renale anti-C'2-Faktor könnte in vivo die Serumbactericidie aber nur dann vermindern, wenn er in die renalen Gefäße diffundieren würde. Ein effektiver Einfluss des Nierenparenchyms auf C' mit folgender lokaler Schwächung der humoralen Wirtsabwehr müßte sich somit in unterschiedlichen C'-Titern des prärenalen arteriellen und postrenalen venösen Blutes manifestieren. Die Gesamt-C'-Titer (C'H50/ml) der in vivo direkt entnommenen Blutproben aus Aorta bzw. v.renalis zeigten jedoch keine Unterschiede. Ebenso verhielten sich die C'-Komponenten (C'1, C'4, C'2, C'3a, b) in diesen Gefäßbereichen einheitlich (TUNN et al.(1967)). Auch nach Bebrüten der Seren bis zu 90 Minuten war kein antikomplementärer Faktor im Nierenvenenblut nachweisbar. Somit ist es naheliegend anzunehmen, daß der anti-C'2 in vitro Effekt von Nierenhomogenaten durch Substrate, die nicht ins Serum gelangen, bedingt ist. Weiterhin

kann aus den vorliegenden Ergebnissen gefolgert werden, daß die C'2-Inhibitoren intra vitam intratubulär vorliegen, weshalb sie auch im Überstand von unbehandelten Nierenhomogenaten aufzufinden sind. In vivo befinden sich diese Inhibitoren dann dort, wo kein C' vorhanden ist, denn die C'-Komponenten können ja als Globuline mit einem Molekulargewicht über 60.000 (BORSOS, RAPP (1965)) die Poren der Glomerulamembranen nicht passieren.

In diesem Zusammenhang interessiert die Tatsache, daß die jeweiligen Titer der C'-Komponenten höher als die für Gesamt-C' sind, einschließglich der im kleinsten Titer vorkommenden Komponente (vergl. Tab. 25, 26). Da die Komponenten-Titration mit R-Seren vorgenommen wurde, läßt sich dies aus folgenden Überlegungen erklären:

1. Beginnend mit der Aktion von C'2 innerhalb der C'-Reaktionssequenz sind die folgenden Intermediärprodukte nicht stabil (s. Tab. 3) und somit werden nicht alle EAC'1- bzw. EAC'1,4-Zellen zu E* umgewandelt (s. Abb. 2).

2. In dem Reaktionssystem mit R-Serum liegen alle C'-Komponenten (bis auf die zu titrierende) in weit höheren Mengen vor als unter natürlichen Verhältnissen. Somit können auch intermediäre Zerfallsprodukte, die unter

normalen in vitro Bedingungen mit Erschöpfen der nächstfolgend reagierenden C'-Komponenten in diesem Zustand verbleiben würden, bei Vorhandensein dieser Komponenten im Reaktionssystem mit R-Serum weiterhin, schließlich doch bis zur Terminalreaktion reagieren. Zusätzlich fallen weniger Zerfallsprodukte an, wenn persensibilisierte Zellen in hoher Quantität noch vor Zerfall weitere Reaktionsschritte eingehen.

Die Zahl von Intermediärprodukten, die eine C'-Komponente unter günstigsten Voraussetzungen erschafft, ist zunächst abhängig von der Quantität dieser C'-Komponenten. Um diese Aktivität quantitativ genau zu erfassen, müssen einerseits alle Zellen sich in einem Zustand befinden, der Voraussetzung für die Aktivierung der betreffenden C'-Komponenten ist, andererseits müssen alle Intermediärprodukte, die durch die betreffende C'-Aktivität entstanden sind, zur Lysis gebracht werden. Nur unter diesen Bedingungen wirkt sich die C'-Komponente limitierend in ihrer ganzen vorhandenen Größe auf den Gesamt-C'-Titer aus. Zur Titration beispielsweise von C'2 eines zu titrierenden C'x wird C'x im Prinzip EAC'1,4-Zellen zugefügt. C'2 des C'x reagiert nun, und es ergeben sich EAC'1,4,2 in dem Ausmaß, in dem C'2 quantitativ vorhanden ist. Dadurch, daß nun diesen Zellen alle C'3-Aktivitäten im Überschuss zugefügt werden, lysieren sämtliche EAC'1,4,2-Zellen und es läßt sich die Quantität von C'2 ermitteln.

Ähnlich optimale Verhältnisse liegen vor, wenn R-Seren zu C'-Komponenten-Bestimmung angewendet werden. Diese Verhältnisse sind aber - wie bereits ausgeführt - unter normalen in vitro Bedingungen bei der Gesamt-C'-Titration nicht gegeben, so daß die mit diesen Methoden ermittelten Titer von C'-Komponenten Aufschluss geben über ihre Quantität. Die so erhaltenen C'-Titer können nicht unmittelbar mit dem Gesamt-C'-Titer in Beziehung gesetzt werden.

Es können sich z.B. C'3 -Aktivitäten, selbst wenn sie in geringerer Konzentration vorhanden sind als C'2-Aktivitäten, als weniger bestimmend auf die Höhe des Gesamt-C'-Titers auswirken als C'2, da die durch ihre Aktivität erhaltenen Intermediärprodukte weniger schnell zerfallen als Zwischenprodukte unmittelbar nach C'2-Aktion.

Bestimmend auf die mit EA als Indikator sichtbare gesamtlytische Aktivität sind zusammenwirkend die in geringster Konzentration vorhandenen C'-Komponenten, die Schnelligkeit des Zerfalls von Intermediärprodukten, sowie das Ausmaß einzelner Inhibitionssubstrate.

Das unspezifische C'-System wird also unter physiologischen Bedingungen (bei einem renalen Plasmadurchfluß von 600cm^3/min, entsprechend 1500 l Blut/d) unbeeinflusst die Niere durchfließen können.

Intrarenal ablaufende Immunreaktionen müssen im peripher venösen Blut zu einem C'-Titer Abfall führen, wenn die C'-Bildung des Körpers unverändert bleibt. So sind auch von verschiedenen Autoren (WEST (1965); SCHÄFER (1965); LANGE (1960)) erniedrigte C'-Titer bei der akuten Glomerulonephritis mitgeteilt worden.

Bei der tierexperimentellen Pyelonephritis lagen noch keine Beobachtungen bezüglich der C'-Titer-Höhen vor. Aus den eigenen vorliegenden Ergebnissen läßt sich bei allgemeiner Betrachtung sagen, daß die C'-Verlaufskurven bei pyelonephritischen Ratten nicht übereinstimmen mit den C'-Verlaufskurven von normalen Ratten, bei denen sich die C'-Titer während der Beobachtung in einem bestimmten Bereich vorfanden. Vor einer näheren Besprechung dieser Ergebnisse erscheint es von berechtigtem Interesse, das hier vorliegende tierexperimentelle Pyelonephritis-Modell mit anderen tierexperimentellen Pyelonephritis-Modellen zu vergleichen, da widersprechende Ergebnisse von kürzlichen Mitteilungen über die Bedeutung der humoralen Infektabwehr bei Pyelonephritis häufig in ungleichwertigen tierexperimentellen Modellen begründet liegen.

Eine chronische pyelonephritische Entzündung läßt sich im Tierversuch auf verschiedene Weisen erzeugen. Nach r e t r o g r a d e r Instillation von Mikroorganismen ist das Angehen einer Nierenentzündung nur möglich bei zusätzlich k o m p l i z i e r e n d e n Faktoren wie kurzfristige Harnabfluß-störungen, Gefäßligaturen oder exogene mechanische Einwirkungen. Diese, aber auch kleine Reizungen der Niere haben störende Folgen für den Harn- und Lymphabfluss und die renale Blutzirkulation. Weiterhin ließ sich eine chronische Pyelonephritis bei h ä m a t o g e n e r Keiminjektion oder ö r t l i c h e r Einbringung von Keimen in die Nierenbeckenwand bzw. das peripelvine Gewebe mit hohem Erfolg ebenfalls nur unter Provozierung komplizierender Faktoren hervorrufen. Auch für eine t o x i s c h - a l l e r g i s c h in Gang gesetzte pyelonephritische Entzündung bei spezifisch aktiv vorimmunisierten Tieren mit zusätzlicher lokaler Injektion von homologen Keimvaccinen waren Harnabflußstauungen die Vorbedingung des Angehens der Infektion (THELEN u. Mitarb. (1956)). Lediglich durch i n t r a v e n ö s e I n j e k t i o n von S t r e p t o c o c c u s f a e c a l i s läßt sich heute ohne exogene Manipulationen bei Ratten eine chronische Pyelonephritis produzieren (GÜZE et al (1960)). Hiermit liegt ein chronisches Infektionsmodell vor, dessen Effekte auch wirklich durch die

Infektion per se und nicht durch etwaige in ihren Auswirkungen unübersehbare extrarenale Manipulationen bedingt sind.

Bei dieser nicht obstruktiven chronisch progressiven Enterokokken-Pyelonephritis der Ratten findet unmittelbar nach Keiminjektion eine bakterielle Ansiedlung in Niere, Leber und Milz statt. In der weiteren Infektionsperiode ist das Verhalten dieser Organe den Keimen gegenüber unterschiedlich. Leber und Milz eliminieren die Keime und werden somit wiederum steril, während die Mikroorganismen in den Nieren verbleiben. Charakteristische histo-pathologische Veränderungen zeigen sich dabei zunächst in den renalen Pyramiden. Es treten epitheliale Degenerationen und Nekrosen sowie eitrige Abszesse im tubulären System mit entsprechenden charakteristischen endzündlichen Veränderungen der angrenzenden Gewebe auf (GUZE, et al (1960)). Wenig später greift der Entzündungsprozess auch auf corticale Organbezirke über. Nach vier Wochen sind dann die entzündlichen und degenerativen Veränderungen mehr diffus verteilt (BRESLAU, GUZE et al, (1964)). Mit dem Auftreten von mikroskopisch sichtbaren feingeweblichen Läsionen und Einbrechen von Mikroabscessen in tubuläre Abflußsysteme erscheinen die Keime auch im Urin der Blase, und zwar erstmals am dritten Tag der Infektion.

Diese pathologischen Charakteristika der chronischen Pyelonephritis lassen sich ursächlich auf ischämische Vorgänge zurückführen (GÜßE). Das erste entzündliche Geschehen in der renalen Medulla mit Absceß- und Ödembildung führt nach drei Tagen zu sichtbaren venösen Abflußstörungen mit venöser Blutüberfüllung und septischen Thromben in den medullären Capillaren. Zwei Tage später tritt dieses Bild generalisiert auf und auch corticale Capillaren zeigen körnige Blutströmung. Ein zweiter ischämischer Prozeß tritt durch diffuse Collagen-Einlagerungen in periglomeruläre und peritubuläre Bezirke nach 24 Infektwochen auf. Beide ischämischen Prozesse führen zu fortschreitender Atrophie des Nierenparenchyms.

Im Gegensatz zu Str.faecalis vermochte Str.durans keine Pyelonephritis zu erzeugen, womit das individuelle Verhältnis von Keim zu Wirtsorganismus betont wird. Erst wenn eine Störung des Gleichgewichts von parasitärem Angriffsvermögen und Wirtsabwehr vorliegt, resultieren Schäden für den Makroorganismus. In dem speziellen Fall der Str.faecalis-Infektion tritt zudem das unterschiedliche Organverhalten besonders zu Tage, was wohl in einer unterschiedlichen potentiellen Abwehrfunktion dieser Organe begründet liegt, denn im Gegensatz zu Leber und Milz mit ortsständigem Reticulo-Endothelialem-System ist die Niere

allein auf die humorale Abwehr angewiesen.

Es ist deshalb vielfach unternommen worden, die Rolle der humoralen Immunfaktoren für die Pathogenese der Pyelonephritis zu erhellen, wobei besonderes Augenmerk auf die Bildung von s p e z i f i s c h e n A n t i k ö r p e r n gelegt wurde.

Die Fähigkeit von Mikroorganismen, unter natürlichen Infektionsbedingungen eine spezifische immunbiologische Reaktion hervorzurufen, kann als ein Kriterium ihrer aktuellen klinischen Pathogenität angesehen werden. Von praktischem Interesse ist auch die Möglichkeit, serologisch zwischen Infektionsrezidiven und Reinfektionen zu unterscheiden, um damit eventuelle Mischinfektionen aufzudecken, die durch die qualitative Erregerkultur alleine nicht nachgewiesen werden können. Das Rezidiv einer chronischen Pyelonephritis ist immer durch den "alten" Erreger mit gleichem Serotyp bedingt. Durch den bei der Reinfektion stattfindenden Keimwechsel treten Antikörper in hohen Titern gegen "neue" antigendifferente (oft biochemisch identische) Mikroorganismen auf.

Somit kommt dem Nachweis von spezifischen Antikörpern im Verlaufe einer Pyelonephritis bei intaktem Antikörper bildendem System einmal besonders diagnostische Bedeutung zu. Zum anderen wird damit aber auch bei intakter unspezifischer Abwehr eine

intravitale Aktivierung des C' - S y s t e m s gegen die h o m o l o g e n Keime zum Ausdruck gebracht. (NEEDELL et al (1955); PERCIVAL et al (1964); WILLIAMSON et al (1964); ANDERSEN et al (1965); ARANA et al (1965); JACKSON et al (1962); KALMANSON, GUZE (1963); SANFORD et al (1962)).

In einer Reihe von Mitteilungen versuchten verschiedene Autoren während der letzten Jahre insbesondere die Rolle der Antikörper bei der experimentellen Harnwegsentzündung zu erklären. S A N F O R D und Mitarb. beobachteten bei der hämatogen gesetzten Pyelonephritis unterschiedliche Verlaufsformen (1962). In den Fällen, bei denen nach der Infektion ein hoher Antikörper-Titer beobachtet wurde, kam es zu einer raschen Verminderung der Keimzahl im Nierengewebe und die akute Pyelonephritis heilte aus (Abb.17). Wenn die Infektion durch einen O-antigenschwachen Erreger wie Klebsiella pneumoniae (Typ C) gesetzt wurde und somit die Antikörperproduktion gegen das Körperantigen ausblieb, kam es zur chronischen Verlaufsform der Entzündung. Bestand eine Schädigung der Niere oder eine Harnwegsobstruktion - entweder durch Einführen von Glaskugeln in die Blase oder durch Auftreten von Nierensteinen - so kam es trotz ausgeprägter Antikörperbildung zur chronischen Pyelonephritis mit hohen Keimzahlen im Nierengewebe. J A C K S O N u. Mitarb. (1962) konnten nun durch zirkulierende Antikörper

bei ebenfalls retrograd gesetzter Pyelonephritis keinen schützenden oder heilenden Effekt auf die "lokale Nierenläsion" beobachten. Hier muss aber - wie schon eingangs ausgeführt - auf die Ungleichwertigkeit der vorliegenden experimentellen Modelle hingewiesen werden, denn das Angehen nach retrograder Instillation von Mikroorganismen ist nur möglich bei zusätzlichen, komplizierenden Faktoren.

Auch bei dem vorliegenden Modell der nicht obstruktiven chronischen Pyelonephritis nach Strept.faecalis-Injektion bei Ratten ist ein ausgeprägter Antikörperanstieg gegen den homologen Keim nach drei Tagen erkennbar. Ebenso bleiben während des weiteren Infektionsgeschehens hohe Antikörper-Titer gegen Strept.faecalis bestehen, die aber unter dem Maximum des initialen Gipfels liegen (KALMANSON, HUBERT, GUZE (1963)).

Die C'-Titerverlaufskurven bei dieser tierexperimentellen Pyelonephritis zeigen gegenüber Verlaufskurven von Normaltieren drei verschieden stark ausgeprägte Senkungen (Abb.14). Ein C'-Titer-Abfall im peripheren Serum kann Ausdruck entweder vermehrten C'-Verbrauches" oder gestörter C'-"Neubildung" sein. Da sich jedoch die C'-Titer der Kontrolltiere immer in einem bestimmten Bereich bewegten, kann bei der Interpretation der C'-Titer der infizierten Tiere von letzterer

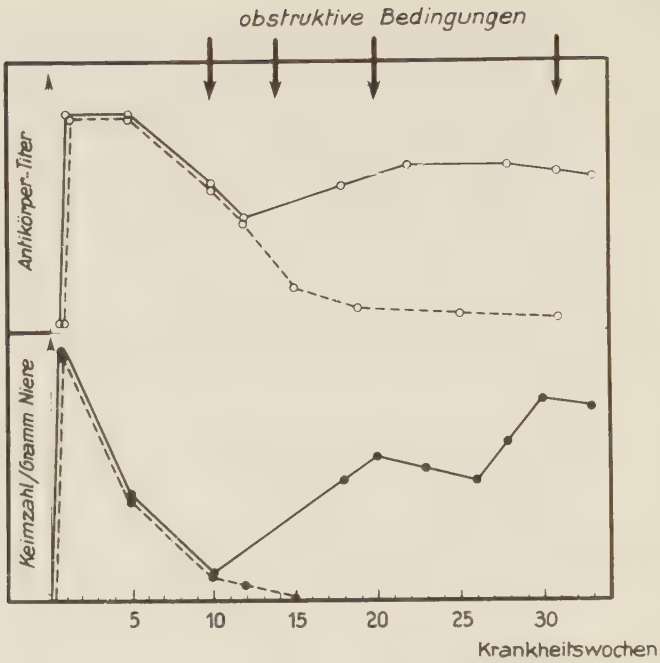


Abb.17 Beziehungen zwischen Keimzahlen im Nierengewebe und bakteriellen Serumantikörpern bei einer einfachen (- - - -) und einer durch obstruktive Bedingungen komplizierten (———) Pyelonephritis.
(nach BRÜHL und TUNN ,1967)

Möglichkeit abgesehen werden. Bei einer einmaligen Bestimmung ist jedoch bei einem niedrigen Titer diese Möglichkeit nicht auszuschließen.

Die erste Senkung des C'-Gehaltes des peripheren Serums innerhalb der ersten 12 Stunden post injectionem muss auf eine intravitale C'-Aktivierung in diesem Zeitraum zurückgeführt werden. In dieser initialen Infektionsphase kommt es zu Eliminierung der Mikroorganismen aus dem Blut (GUZE (1960)). Die Tilgung der Bakterien aus dem Blut wird durch die Phagocytose des Reticulo-Endothelialen-Systems ermöglicht, denn nur die fixen Phagocyten dieses Systems nehmen zirkulierend Bakterien auf (MIESCHER et al (1963); BIOZZI et al (1962)). Antikörper und C'-Komponenten stellen die Faktoren dar, die durch ihre Aktion auf der bakteriellen Oberfläche eine Phagocytose ermöglichen. Sie wirken somit als Opsonine. Dabei ist - wie bereits ausgeführt- besonders die Aktivierung von C'3a ausschlaggebend. Da ein gewisser Antikörper-Grundtiter gegen Str.faecalis bei normalen Ratten nachweisbar ist, ist auch unmittelbar nach Keiminjektion eine spezifische Immunreaktion mit C'-Aktivierung zu erwarten. Eine solche Aktivierung findet ihren Niederschlag in der ersten Gesamt-C'-Senkung. Die dann nachweisbare Tendenz der C'-Titer zu Normalwerten kann nun

aber nicht nur in einer Beendigung dieser Reaktionen gesehen werden, denn bei einem dramatischen C'-Titersturz wie z.B. im anaphylaktischen Schock, erreicht der C'-Titer bereits nach einigen Stunden wieder seine anfänglichen oder sogar erhöhte Werte. Der C'-Anstieg 24 Stunden post injectionem kann deshalb sowohl aus einem verminderten Ausmaß auftretender spezifischer Immunreaktionen oder einer erhöhten C'-Neubildung resultieren.

Die im weiteren Verlauf des Infektionsgeschehens nach drei bis vier Tagen eintretende ausgeprägte Antikörperbildung läßt wiederum bei vermehrt ablaufenden Antigen-Antikörper-Raktionen eine vermehrte C'-Aktivierung erwarten. Wie Untersuchungen von B I O Z Z I und S T I F E L (1962) zeigen, vermögen spezifische Immunseren bei Vorhandensein des C'-Systems das Ausmaß der phagocytären Vorgänge im RES zu erhöhen, wodurch eine beschleunigte Eliminierung von Bakterien aus dem Blut eintritt. Dementsprechend ziehen Reduzierungen des C'-Gehaltes durch exogene Manipulationen eine verminderte "Immune clearence" nach sich.

Die zweite Muldenbildung in den Verlaufskurven für die gesamtlytische Aktivität infizierter Tiere innerhalb drei bis sechs Tagen dürfte mitbegründet liegen in einer durch das vermehrte Auftreten von Antikörpern bedingten intravitalen C'-Akti-

vierung. Die dadurch erzielten Effekte wie erhöhte Phagocytose und Bakteriolyse tragen zur endgültigen Eliminierung der zirkulierenden Keime aus dem Blut bei. So sind die injizierten Enterokokken bereits nach ungefähr 10 Stunden im Blut zahlenmäßig so vermindert, daß sie bei direktem Blutausstrich auf feste Nährmedien nicht mehr nachweisbar sind. Nach ungefähr einer Infektionswoche lassen sie sich auch aus Blutproben, die 48 Stunden in flüssigen Nährmedien bebrütet wurden, nicht mehr züchten (GUZE, GOLDNER, KALMANSON (1960)).

Zu dieser Zeit treten die ersten Läsionen der Tubulusepithelien sowie Rupturen von Mikroabscessen mit folgendem Einstrom von Keimen in die Harnabflußsysteme auf. Die zu gleicher Zeit nachweisbaren Antikörper-Titererhöhungen und C'-Titererniedrigungen zusammen mit den ersten Tubulusläsionen lassen den Verdacht immunologischer Traumen im Nierenparenchym aufkommen. Ein ähnliches Verhalten dieser serologischen Komponenten zueinander mit Zellschädigungen im Gefolge erscheint im akuten Stadium von Immunopathien (COCHRANE (1965); UNANUE, DIXON (1965)). Wiederholt wurden auch Autosensibilisierungsmechanismen bei der Pyelonephritis von mehreren Autoren diskutiert, ohne daß bisher Autoantikörper gegen Nierengewebe nachzuweisen waren (KRAMER et al (1961); KALMANSON, GUZE (1963)).

Erst ein direkter Nachweis (mittels der Fluoreszenztechnik) von einzelnen zellulär fixierten C'-Komponenten im pyelonephritisch veränderten Nierenparenchym wird Aufklärung über immunologisch bedingte Gewebsläsionen erbringen können.

Bei dem weiteren, im einzelnen kaum übersehbaren Entzündungsgeschehen lassen die Verlaufskurven der C'-Titer keine eindeutigen Interpretationen zu. Sicherlich dürfte das C'-System an weiteren Opsonisierungsvorgängen beteiligt sein. Auch die chemotaktischen Effekte des aktivierten trimolekularen C'3b,α,β-Komplexes dürften sich im Nierengewebe auswirken, zumal leukocytäre Infiltrationen nachgewiesen wurden (BRESLAU et al (1964)). Eine eindeutige Zuordnung des Verhaltens des C'-Systems zu den ablaufenden Prozessen läßt sich jedoch allein mit diesen Untersuchungen nicht erbringen. Somit müßte auch eine Interpretation der dritten Senkung der Gesamt-C'-Verlaufskurve von pyelonephritischen Ratten, die bei Kontrolltieren nicht auftritt, sehr spektakulären Charakter tragen. Festzuhalten ist jedoch die bis zur zehnten Infektionswoche andauernde Erniedrigung des peripheren C'-Gehaltes, während die ermittelten C'-Titer danach keine Abweichungen gegenüber Norm-C'-Titern aufweisen. Natürlich ist auch in dieser normokomplementämischen Phase der Pyelonephritis die Möglichkeit

eines ständigen C'-"Verbrauches", der durch entsprechende C'-Mehrbildung ausgeglichen wird, gegeben. Ebenso wird bei normokomplementämischer chronischer Glomerulonephritis, bei der glomerulokapillär abgelagerte Immunaggregate nachgewiesen wurden (SCHÄFER (1965)), trotz fortbestehender Antigen-Antikörper-C'-Reaktionen keine Erniedrigung des C'-Gehaltes gefunden (LANGE (1960); SCHÄFER (1965)). Der Organismus scheint also einen anfallenden verminderten C'-Gehalt des Serums erkennen und durch vermehrte C'-Proteinbildung ausgleichen zu können. Dies gleicht bei den chronischen Immunopathien einer Fehlregulation, denn damit sorgt der Organismus selbst für eine kontinuierliche Nachbildung des Systems, das seine eigenen Zellen schädigt.

Pyelonephritisch erkrankte Tiere zeigen also im chronischen Stadium keinen Ausfall der unspezifischen humoralen Infektabwehr. Auch die spezifische humorale Infektabwehr zeigt keine Einschränkung, wie aus den hohen Antikörper-Titern gegen die pathogenen Keime zu ersehen ist. Da nach hämatogener Str.faecalis-Injektion selektiv das Nierenparenchym geschädigt wird, kommt der Reaktionslage des Nierengewebes gegenüber den angreifenden Mikroorganismen besondere Bedeutung zu. Unter physiologischen Bedingungen ist die Niere von allen natürlichen und durch Immunisierung erworbenen Abwehrstoffen in

hohem Maße durchspült (KUHIN (1962)). Immunologisch bedingte zellzerstörende Prozesse können deshalb auch besonders gut unterhalten werden. Ausserdem kann das C'-System auch die Bildung von den sogen. "Protoplasten"-Bakterien, die ihre Zellwand teilweise oder ganz verloren haben, hervorrufen.

Da C' in seiner Terminalreaktion membranschädigend wirkt, ist ein Überleben von Bakterien nach Verlust ihrer Permeabilitätsbarrieren nur im hypertonen Milieu möglich. Im hypertonen Milieu der Niere fanden K A L M A N S O N und G U Z E (1963) bei der Str.faecalis-Pyelonephritis derartige Protoplasten, die sie für die Pathogenese des chronisch entzündlichen Geschehens verantwortlich machten.

Andererseits muss sich jede Störung der renalen Durchblutung, sei sie entzündlich, reflektorisch oder mechanisch (Traumatisierung, Harnstauung etc.) bedingt, nachteilig auf die renale Abwehrkraft auswirken. Die bei der tierexperimentellen Str.faecalis-Pyelonephritis gefundenen lokalen ischämischen Prozesse in der Niere ziehen somit auch eine lokale Abwehrschwäche des schutzbedürftigen Nierenparenchyms nach sich: die Atrophie des Nierenparenchyms schreitet fort.

Bei der Mehrzahl der P a t i e n t e n mit chronischer Pyelonephritis ließen sich analog zu den tierexperimentellen Befunden keine gegenüber Kontrollpersonen wesentlich veränderten C'-Titer nachweisen. Nur Patienten mit Insuffizienzerscheinungen ihrer Nieren wiesen einen erhöhten C'-Gehalt auf. Bei Patienten mit einer primär glomerulär bedingten Niereninsuffizienz fand SCHÄFER (1964) ähnliche Ergebnisse. In dem Zustand der schon seit langer Zeit fortschreitenden Nierenschädigung findet eine vermehrte C'-Protein-Produktion statt als Ausdruck eines erhöhten Abwehrversuches des Makroorganismus (SCHÄFER (1964)). Bei Patienten mit akuten Cystitiden waren dagegen die C'-Titer durchweg erniedrigt, was auf eine C'-Beteiligung bei diesen akuten entzündlichen Vorgängen deutet. Im akuten entzündlichen Geschehen wird ein durch Immunreaktionen anfallendes C'-Defizit im peripheren Serum noch nicht durch C'-Mehrbildung ausgeglichen.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Untersuchungen über das Verhalten der Niere zum Komplement (C')-System in vitro und in vivo, sowie über das Verhalten des C'-Systems bei der tierexperimentellen Enterokokken-Pyelonephritis der Ratte und bei Patienten mit chronischer Pyelonephritis hatten folgende Ergebnisse:

Homogenate von Meerschweinchen-Nieren inaktivieren im Gegensatz zu anderen Organhomogenaten (Leber, Lunge) nach vorheriger 15-minütiger Inkubation mit einem Serum dessen gesamtlytische C'-Aktivität. Gewaschene Nierenhomogenate zeigen keinen anti-C'-Effekt. Nach Zentrifugation von Nierenhomogenaten ist allein im Überstand der anti-C'-Faktor zu finden. Da auch gewaschene, beschallte Nierenzellen keinen anti-C'-Effekt zeigen, kann auf das intratubuläre in vivo Vorliegen des renalen anti-C'-Faktors geschlossen werden.

Dieser anti-C'-Faktor zerstört in vitro die C'2-Aktivität des C'-Systems.

Lebende Nieren- und Leberzellsuspensionen sowie Nierenzellkulturen beeinflussen die C'-Aktivität bei mehrstündiger Stoffwechselaktivität nicht. Auch zeigten Patientenseren, die nach direkter Sondierung aus prärenalen arteriellen und postrenalen venösen Gefäßbereichen gewonnen wurden, ebenso wie entsprechende Kaninchenseren, jeweils in

keinem Fall unterschiedliche Gesamt-C'-Titer in diesen Gefäßbereichen. Hierbei verhielten sich auch die jeweiligen Titer der klassischen C'-Komponenten (C'1, C'4, C'2, C'3a, b) einheitlich.

Auf Grund dieser Befunde dürfte der renale anti-C'-Faktor im Widerspruch zum Postulat von BEESON und ROWLEY in vivo die Serumbactericidie und somit auch die lokale Abwehrkraft der Niere nicht beeinflussen. Dieser anti-C'2-Effekt ist vielmehr durch Substrate bedingt, die nicht ins Serum gelangen und nicht intrazellulär vorliegen, so daß das C'-System unter physiologischen Bedingungen unbeeinflusst die Niere durchströmen kann.

Die Verlaufskurven der Gesamt-C'-Titer im Serum von Ratten mit Enterokokken-Pyelonephritis sind in den ersten 10 Infektionswochen gegenüber den C'-Verlaufskurven von Kontrolltieren durchweg erniedrigt. Während einer Beobachtungszeit bis zu 25 Wochen lagen die C'-Titer der infizierten Ratten bei fortschreitender Pyelonephritis im Normbereich. Ebenso ergaben sich bei 25 Patienten mit chronischer Pyelonephritis ohne Kreatininerhöhungen bei wiederholten Untersuchungen durchweg C'-Titer im Normbereich. Patienten mit chronischer Pyelonephritis und erhöhten Kreatininwerten wiesen dagegen erhöhte C'-Titer auf.

Das Verhalten und die Bedeutung des C'-Systems bei der Patnogenese der tierexperimentellen Pyelonephritis wird diskutiert, wobei die Möglichkeit immunologischer Läsionen im Nierenparenchym während des Infektionsgeschehens gegeben erscheint.

Schrifttum

AMIRAIAN,K., C.J.PLESCIA, C.CAYALLO and M.HEIDELBERGER: Complex nature of the step in immune hemolysis involving third component of complement. Science 127, 239-240 (1958).

ANDERSEN,H.J., K.LINCOLN, F.ØRSKOV, J.ØRSKOV and J.WINBERG: Studies of urinary tract infections in infancy and childhood. J.Pediatrics 67, 1073-1088 (1965).

ARANA,J.A., V.M.KOZIJ and G.G.JACKSON: The immunologic status of the host and pyelonephritis; a study of retrograde E. coli urinary infections in rats. J.Immunol. 94, 337-343 (1965).

BECKER,E.L.: Concerning the mechanism of complement action. V. The early steps in immune hemolysis. J.Immunol. 84, 299-308 (1960).

BEESON,P.B. and D.ROWLEY: The anticomplementary effect of kidney tissue. Its association with ammonia production. J.Exp.Med. 110, 685-697 (1959).

BENACERRAF,B., M.SEBESTEN and N.S.COOPER: The clearance of antigen-antibody complexes from the blood by the reticulo-endothelial system. J.Immunol. 82, 131-137 (1959).

BETKE,K. u.W.SAVELSBERG: Stufenphotometrische Hämoglobinbestimmung mittels Cyanhämoglobin. Biochem. Z. 320, 431-439 (1959).

BIER,O.G., G.LEYTON, M.M.MAYER and M.HEIDELBERGER: J.Exp.Med. 81, 449 (1945) - zitiert nach R.A.NELSON: The role of complement in immune phenomena in: The inflammatory process; Academic Press, Inc., New York, 819-872 (1965).

BIOZZI,G. and C.STIFFEL: Role of normal and immune opsonins in the phagocytosis of bacteria and erythrocytes by the reticulo-endothelial cells; IInd Internat. Symp. Immunopathology, B.SCHWABE, Basel, 249-266 (1962).

BJÖRKLUND,B.: A serum cytolytic factor active against HeLa and other established cell strains. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 103, 1-4 (1960).

BORDET,J.: Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang défibriné. Ann. de l'Inst.Pasteur. 12, 688-699 (1898).

BORSOS,T. and H.J.RAPP: On the action of the second component of guinea pig complement. Fed. Proc. 18, 560 (1959).

BORSOS,T. and M.M.MAYER: Mechanism of action of guinea pig complement. II[nd] Internat. Symp. Immunopatholgy, B.SCHWABE Basel 13-22 (1962).

BORSOS,T., R.R.DOURMASHKIN and J.H. HUMPHREY: Lesions in erythrocyte membranes caused by immune haemolysis. Nature 202, 251-252 (1964).

BORSOS,T. and H.J.RAPP: Hemolysin titration based on the fixation of the actirated first component of complement. Evidence that one molecule of hemolysin suffices to sensitize an erythrocyte. J.Immunol. 95, 559-566 (1965a).

BORSOS,T. and H.J.RAPP: Estimation of molecular size of complement component by sephadex chromatography. J.Immunol 94, 510-513 (1965b).

BRENNER,L.J. and E.E.ECKER: Some problems encountered in t essay of complement. Z.Immunitätsf. 129, 56-77 (1965).

BRESLAU,A.M., H.C.GONICK, S.C.SOMMERS and L.B.GUZE: Pathogenesis of chronic pyelenephritis. Studies on non obstructi enterococcal pyelonephritis in the rat.Am.J.Path. 44, 679-706 (1964).

BRÜHL,P. u. U.-W.TUNN: Immunologische Aspekte der Pyelonephritis. Urologe 6, 37-40 (1967).

BUCHNER,H.: Über die nähere Natur der bakterientötenden Su stanz im Blutserum. Centralbl. f. Bakt. 6, 561-565 (1889).

BUCHNER,H.: Zur Kenntnis der Alexine, sowie der spezifisch bactericiden und spezifisch hämolytischen Wirkungen. Münch Med. Wschr. 46, 277-283 (1900).

CARPENTER,C.B. and T.J.GILL: Effect of mercaptans and othe agents on the human complement component β_{1c}-globulin. Immunol. 10, 355-363 (1966).

COCA,A.F.: A study of anticomplementary action of yeast of certain bacteria and of cobra venom. Z.Immunitätsf. 21, 604-622 (1914).

COCHRANE,Ch.G.: The Arthus reaction in: The inflammatory Process, Academic Press, New York and London 1965, Ch. 19, 613-648.

DONALDSON,V.H. and R.R.EVANS: A biochemical abnormality in hereditary angioneurotic edema. Absence of serum inhibitor of C'1-esterase. Am.J.Med. 35, 37-51 (1963).

EHRLICH,P. u. J.MORGENROTH: Zur Theorie der Lysinwirkung. Berl. Klin. Wschr. 36, 6-9 (1899).

EHRLICH,P. u. J.MORGENROTH: Über Hämolysine. I.Berl.Klin. Wschr. 36, 481-486 (1899).

EHRLICH,P. u. J.MORGENROTH: Über Hämolysine. III. Berl. Klin. Wschr. 37, 681-687 (1900).

FERRATA,A.: Die Unwirksamkeit der komplexen Hämolysine in salzfreien Lösungen und ihre Ursache. Berl.Klin.Wschr. 44, 366-368 (1907).

FISCHER,H. u. I.HAUPT: Das cytolysierende Prinzip von Serumkomplement. Z. Naturforsch. 16B, 321-328 (1961).

FISCHER,H., Ch.VOGT u. H.HERRSCHAFT: Untersuchungen über die Wirkung von Komplement-Cytolysin auf den Zellstoffwechsel. Klin.Wschr. 41, 10-14 (1963).

FISCHER,H.: Diskussionsbeitrag, Symp. Entmarkungsencephylomyelitiden. Z. Immunitätsf. 126, 148 (1964).

FISCHER,H. u. I.HAUPT: Serumkomplement. 15. Colloq. Gesell. Phys.Chem., Mosbach, Springer, 284-306 (1965).

FRANK,M.M., H.J.RAPP and T.BORSOS: Mechanism of the damage -producing steps of immune haemolysis. Ciba Found. Symp. Complement, Churchill Ltd., London, 120-126 (1965).

GOLDBERG,B. and H.GREEN: The cytotoxie action of immune γ-globulin and complement of Krebs ascites tumor cells. I. Ultrastructural studies. J.Exp.Med. 109, 505-510 (1959).

GOLDWASSER,R.A. and C.C.SHEPARD: Staining of complement and modifications of fluorescent antibody procedures. J.Immunol. 80, 122-131 (1958).

GORDON,J., H.A.WHITEHEAD and A.WORMALL: Bioch.J. 20, 1028 (1926); zitiert nach M.M.MAYER in KABAT and MAYER'S Experimental Immunochemistry, 2nd edit., Ch.THOMAS, Springfield (1961).

GREEN,H., R.A.FLEISCHER, P.BARROW and B.GOLDBERG: The cytotoxie action of immune γ-globulin and complement on Krebs ascites tumor cells. II. Chemical studies. J.Exp.Med. 109, 511-521 (1959).

GREEN,H., P.BARROW and B.GOLDBERG: Effect of antibody and complement on permeability control in ascites tumor cells and erythrocytes. J.Exp.Med. 110, 699-713 (1959).

GUZE,L.B., B.H.GOLDNER, G.M.KALMANSON: Pyelonephritis. I. Observations on the course of chronic non obstructed enterococcal infection in the kidney of the rat. Yale J.Biol.Med. 33, 372-385 (1960).

HEGEDÜS,A. u. H.GREINER: Quantitative Bestimmung der Komplementbestandteile. Z. Immunitätsf. 92, 1-13 (1938).

HAUPT,I. u.H.FISCHER: Die Beteiligung von Komplement an nicht immunologischen Vorgängen. Proc. VIII. Congr. Europ. Soc. Haematol., Wien, 498-499 (1961).

HEIDELBERGER,M. Complement: Immunity intensifier, diagnostic drudge, chemical curiosity. Am. Scient. 34, 597-619 (1946).

HITZIG,W.H.: Genese, Bedeutung und Pathologie der Antikörper. Ärztl. Fortbildg. 16, 62-65 (1966).

HUMPHREY,J.H. and R.R. DOURMASHKIN: Electron microscope studies on immune cell lysis. Ciba Found. Symp. Complement, Churchill Ltd., London, 175-187 (1965).

HUNTER,B.W., L.L.AKINS and J.P.SANFORD: The role of immunity in the pathogenesis of experimental retrograde pyelonephritis. J.Exp.Med. 119, 869-879 (1964).

INOUE,K., Y.TANIGAWA, M.TAKUBO, M.SATANI and T.AMANO: Quantitative studies of immune bacteriolysis. II. The role of lysozyme in immune bacteriolysis. Biken's J. 2, 1 (1959).

INOUE,K. and R.A.NELSON: The isolation and characterization of a new component of hemolytic complement, C'3e. J.Immunol. 95, 355-367 (1965).

INOUE,K. and R.A.NELSON: The isolation and characterization of a ninth component of hemolytic complement, C'3f. J.Immunol. 96, 386-400 (1966).

ISHIZAKA,T., K.ISCHIZAHA: Biological activities of aggregated gamma globulin. I. Skin reactive and complementfixing properties of heat denaturated gamma globulin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101, 845-850 (1959).

JACKSON,G.G., J.A.ARAMA, B.R.ANDERSON, H.G.GRIEBLE and W.R.McCABE: Profiles of Pyelonephritis. Arch. Int. Med. 10, 663-675 (1962).

JENSSEN,J.A.: On the origin of anaphylatoxin. Bact. Proc. (abstracts), 63 (1966).

JOHNSON,R.C. and C.H.MUSCHEL: Antileptospiral activity of serum. I. Normal and immune serum. J. Bact. 91, 1403-1409 (1966).

KALFAYAN,B. and J.G.KIDD: Structural changes produces in Brown-Pearce carcinoma cells by means of a specific antibody and complement. J.Exp.Med. 97, 145-162 (1953).

KALMANSON,G.M. and L.B.GUZE: Pyelonephritis. An attempt to demonstrate anti-kidney antibody in the sera of patients with chronic bactiurie. Amer. J. Med., Sci. 246, 532-535 (1963

KALMANSON,G.M., E.G.LUBERT and L.B.GUZE: Pyelonephritis. IV. Role of serum bactericidal activity and antibody in chronic enterococcal pyelonephritis in the rat. Proc. Soc. Biol.,Med. 113, 918-921 (1963).

KELLER,R.: The effect of aggregated γ-globulin on immune cytolysis: The role of complement; Experentia 20, 378 (1964).

KLEIN,P.G. u. P.BURKHOLDER: Die Darstellung von fixiertem Komplement mit markiertem Antikomplement. Schweiz. Z. Path. Bakt. 22, 729-731 (1959).

KLEIN,P.G. and P.M.BURKHOLDER: Studies on the antigenic properties of complement. I. Demonstration of agglutinating antibodies against guinea pig complement fixed on sensitized sheep erythrocytes. J.Exp.Med. 111, 93-106 (1960).

KLEIN,P.G. and P.M.BURKHOLDER: Studies on the antigenic properties of complement. II. Analysis of specific agglutinins against certain components of guinea pig complement fixed on sensitized sheep erythrocytes. J.Exp.Med. 111, 107-118 (1960).

KLEIN,P.G. and H.J.WELLENSIEK: Multiple nature of the third component of guinea pig complement. I. Separation and characterization of three factors a, b and c, essential for haemolysis. Immunol. 8, 590-603 (1965).

KLEIN,P.G.: Faktorenanalyse der dritten Komplementkomponente. 15. Colloq. Gesell. f. Phys. Chem., Mosbach, Springer, 330-347 (1965).

KRAMER,N.C., M.F.WATT, J.H.HOWE and A.E.PARRISH: Circulating antihuman kidney antibodies in human renal diseas. Am.J.Med. 30, 39-45 (1961).

KROGH,v.M.: Collodial chemistry and immunology. J. Infect. Dis. 19, 452-477 (1916).

KUNIN,C.M.: Antibody distribution against nonenteropathic E.coli. Arch.Int.Med. 110, 676-686 (1962).

LACHMANN,P.J., H.J.MÜLLER-EBERHARD, H.G.KUNKEL and F.PARANETTO: The localization of in vivo bound complement in tissue sections. J.Exp.Med. 115, 63-82 (1962).

LANGE,K., F.WASSERMANN and L.B.SLOBODY: The significance of serum complement levels for the diagnosis and prognosis of acute and subacute glomerulonephritis and lupus erythematosus disseminatus. Ann.Int.Med. 53, 636-657 (1960).

LEON,M.A.: Complement inactivation of second component by p-Hydroxymercuribenzoate. Science 147, 1034-1035 (1965).

LEPOW,I.H., G.B.NAFF, E.W.TODD, J.PENSKY and C.F.HINZ: Chromatographic resolution of the first component of human complement into three activities. J.Exp.Med. 117, 983 (1963).

LEPOW,I.H., G.B.NAFF and J.PENSKY: Mechanisms of activation of C'1 and inhibition of C'1 esterase. Ciba Found. Symp. Complement, Churchill Ltd., London, 74-90 (1965).

LI,I.W. and S.MUDD: The heat-labile serum factor associated with intracellular killing of staph. aureus. J.Immunol. 94, 852-857 (1965).

LINSCOTT,W.D. and Ch.G.COCHRANE: Guinea pig ß 1c-globulin: Its relationship to the third component of complement and its alteration following interaction with immune complexes. J.Immunol. 93, 972-984 (1964).

LINSCOTT, W.D. and K.NISHIOKA: Components of guinea pig complement. II. Seperation of serum fractions essential for immune hemolysis. J.Exp.Med. 118, 795-815 (1963).

MAYER,M.M., L.LEVINE, H.J.RAPP and A.A.MARUCCI: Kinetic studies on immune hemolysis. VII. Decay of EAC'1, 4, 2, fixati of C'3 and other factors influencing the hemolytic action of complement J.Immunol. 73, 443-454 (1954).

MAYER,M.M.: Complement and complement fixation in KABAT and MAYER'S Experimental Immunochemistry, 2nd edit., Ch.THOMAS, Springfield, Ill., 133-240 (1961).

MAYER,M.M. in H.J.RAPP and T.Borsos': Complement and hemolysis. Science 141, 738-740 (1963).

MAYER,M.M.: Mechanism of haemolysis by complement. Ciba Found Symp. Complement, Churchill Ltd., London, 4-32 (1965).

MIESCHER,P.A., H.L.SPIEGELBERG and B.BENACERRAF: Mechanisms of elimination of sensitized rat erythrocytes and E. coli from the circulation of mice. IIIrd Internat. Symp. Immunol. pathology, B.SCHWABE, Basel, 311-317 (1963).

MÜLLER-EBERHARD,H.J. and H.G.KUNKEL: Isolation of a thermolabile serum protein which precipitates γ-globulin aggregates and precipitates in immune hemolysis. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 106, 291-295 (1961).

MÜLLER-EBERHARD,H.J., M.A.CALCOTT and M.R.MARDINEY: Conversion of ß 1c-globulin by C'2a. Fed. Proc. 23, 506 (1964).

MÜLLER-EBERHARD,H.J.; Diskussionsbeitrag. 15. Colloq. Gesell. Phys.Chem., Mosbach, Springer, 342-343 (1965).

MÜLLER-EBERHARD,H.J.: Chemie der Komplement-Faktoren. 15. Colloq. Gesell. Phys.Chem., Mosbach, Springer, 309-329 (1965)

MÜLLER-EBERHARD,H.J.; A.P.DALMASSO and M.A.CALCOTT: The reaction mechanism of ß1c-globulin C'3 in immune hemolysis. J.Exp Med. 123, 33-54 (1966).

MUSCHEL,L.H. and J.E.JACKSON: Activity of the antibody-complement system and lysozyme against rough gram-negative organism Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 113, 881-884 (1963).

MUSCHEL,L.H.: Immune bactericidal and bacteriolytic reactions. Ciba Found. Symp. Complement, Churchill Ltd., London, 155-169 (1965).

NAFF,G.B., J.PENSKY and I.H.LEPOW: The macromolecular nature of the first component of human complement. J.Exp.Med. 119, 593-613 (1964).

NEEDELL,M.H., E.NETER, W.J.STAUBITZ and W.A.BINGHAM: The antibody (hemagglutinin) response of patients with infections of the urinary tract. J. Urol. 74, 674-682 (1955).

NELSON,R.A. and M.M.MAYER: Immobilization of Treponema pallidum in vitro by antibody produced in syphilitic infection. J.Exp.Med. 89, 369-393 (1949).

NELSON,R.A.: Immune-Adherence. II[nd] Internat. Symp. Immunopathology; B.SCHWABE, Basel 245-248 (1962).

NELSON,R.A.: The role of complement in immune phenomena in: The inflammatory process, Acad. Press, Inc., New York, 819-872 (1965).

NILSSON,U.R. and H.J.MÜLLER-EBERHARD: Isolation of β1f-globulin from human serum and its characterization as the fifth component of complement. J.Exp.Med. 122, 277-298 (1965).

NISHIOKA,K. and W.D.LINSCOTT: Component of guinea pig complement. I. Seperation of a serum fraction essential for immune hemolysis and immune adherence. J.Exp.Med. 118, 767-794 (1963).

NÖLLER,H.G.: Die Blutentnahme aus dem retroorbitalen Venenplexus. Klin. Wschr. 33, 770-771 (1955).

OSAWA,E. and L.H.MUSCHEL: Studies relating to the serum resistance of certain gram-negative bacteria. J.Exp.Med. 119, 41-51 (1964).

PERCIVAL,A., W.BRUMFITT and J.deLOUVOIS: Serum antibody levels as an indication of clinically inapparent pyelonephritis. Lancett, 1027-1033 (1964).

PFEIFFER,R. u. W.KOLLE: Weitere Untersuchungen über die spezifische Immunitätsreaktion der Choleravibrionen im Tierkörper und Reagenzglase. Centralbl. f. Bact. 20, 129-147 (1896).

PHILIPPS,G.B. and E.MIDDLETON: Studies on lysolecithin formation in immune hemalysis. J. Immunol. 94, 40-46 (1965).

RAPP,H.J.: Mechanism of immune hemolysis. Recognition of two steps in conversion of EAC' 1, 4, 2 to E. Science 127,234-236 (1958).

RATNOFF,O.D. and I.H.LEPOW: Complement as a mediator of inflammation. Enhancement of vascular permeability by purified human C'1 esterase. J.Exp.Med. 118, 681-697 (1963).

RITZ,H.: Über die Wirkung des Cobragiftes auf die Komplemente. Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der hämolytischen Komplemente. Z. Immunitätsf. 13, 62-83 (1912).

ROSS,A. and I.H.LEPOW: Studies on immune cellular injury. I. Cytotoxic effects of antibody and complement. J.Exp.Med. 112, 1085-1106 (1960).

ROSSE,W.F., R.DOURMASHKIN and J.H.HUMPHREY: Immune lysis of normal human and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) red blood cells. III. The menbrane defects caused by complement lysis. J.Exp.Med. 123, 969-984 (1966).

ROTHER,K. u. U.ROTHER: Über einen angeborenen Komplementdefekt bei Kaninchen. Z. Immunitätsf. 121, 224-232 (1960).

ROTHER,K., U.ROTHER u. K.F.PETERSON, D.GEMSA and F.MITZE: Immune bactericidal activity of complement. Separation and description of intermediate steps. J. Immunol. 93, 319-330 (1964).

ROTHER,K., U.ROTHER u. F.SCHINDERA: Passive Arthus Reaktion bei C' defekten Kaninchen. Z. Immunitätsf. 126, 473-488 (1964).

SACHS,H. u. L.OMOROKOW: Über die Wirkung des Cobragiftes auf die Komplemente. Z. Immunitätsf. 10, 710-724 (1911).

SANFORD,J.P., B.W.HUNTER and L.L.SOUDA: The role of immunity in the pathogenesis of experimental hematogenous pyelonephritis. J.Exp.Med. 115, 383-410 (1962).

SARRE,H. u. K.ROTHER: Immunpathologie in Klinik und Forschung von P.Miescher und K.O.Vorlaender, G.Thieme, Stuttgart, 95-133 (1957).

SCHÄFER,H.E. u. A.SCHÄFER: Zur Pathogenese der glomerulären Nierenerkrankungen. Mat. Med. Nordmark. 17, 158-177 (1965).

SCHÄFER,H.E.: Diagnostische Möglichkeiten bei immunologisch bedingten Nierenkrankheiten. Münch. Med. Wschr. 106, 715-719 (1964).

SCHWICK,H.G.: Quantitative Immunpräcipitation zur Bestimmung einzelner Plasmaprotheine. 15. Colloq. Gesell. Phys.Chem., Mosbach, Springer, 55-67 (1965).

SHAYEGANI,M.G. and S.MUDD: Role of serum in the intracellular killing of Staph.aureus in rabbit monocytes. J. Bact. 91, 1393-1398 (1966).

TAYLOR,A.B. and A.M.LEON: Isolation of three components of the C'3 complex. Fed. Proc. 20, 19 (1961).

TERRY,W.D., T.BORSOS and H.J.RAPP: Differences in serum complement activity among inbred strains of mice. J. Immunol. 93, 576-578 (1964).

THELEN,A., K.ROTHER u. H.SARRE: Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der pyelonephritischen Schrumpfniere. Urol. Internat. 3, 359-389 (1956).

TODA,T. u. B.MITSUSE: Studien über die Komponenten des hämolytischen Komplements. Z. Immunitätsf. 78, 62-81 (1933).

TUNN,U., W.P.BRÜHL u. H.BLAISE: Zur Frage des antikomplementären Effektes der Niere. I. Gesamtlytische Aktivität und Komplementkomponenten im praerenalen und postrenalen Gefäßbereich. Klin. Wschr. 45, 492-493 (1967).

UNANUE,E. and R.D.DIXON: Experimental glomerulonephritis. IV. Participation of complement in nephrotoxie nephritis. J.Exp.Med. 119, 965-982 (1964).

WARD,P.A., Ch.G.COCHRANE and H.J.MÜLLER-EBERHARD: The role of serum complement in chemotaxis of leucocytes in vitro. J.Exp. Med. 122, 327-346 (1965).

WARD,P.A. and Ch.G.COCHRANE: Bound complement and immunologic injury of blood vessels. J.Exp.Med. 121, 215-233 (1965).

WARD,P.A., Ch.G.COCHRANE and H.J.MÜLLER-EBERHARD: Further studies on the chemotactic factor of complement and its formation in vivo. Immunol. 11, 141-153 (1966).

WELLENSIEK,H.J., R.SAUTHOFF u. P.KLEIN: Die komplexe Natur der dritten Komplementkomponente: Nachweis von gebundenem C'3a durch Agglutination und durch Funktionsblockade mit Anti-Komplement. Path. Mikrobiol. 26, 665-670 (1963).

WELLENSIEK,H.J.: Ein Verfahren zur Messung der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit von hämolytisch aktiven Komplement-Komponenten. Z. Hyg. 151, 222-231 (1965).

WELLENSIEK,H.J. and P.G.KLEIN: Multiple nature of the third component of guinea pig complement. II. Seperation and description of two additional factors ß and ɣ. Immunol 8, 604-617 (1965).

WEST,C.D., A.J.McADAMS, J.M.CONVILLE, N.C.DAVIS and N.H.HOLLAND: Hypocomplementemic and normocomplementemic persistent (chronic) glomerulonephritis; clinical and pathologic characteristics. J. Pediatrics 67, 1089-1112 (1965).

WILLIAMSON,J., H.BRAINARD, M.SCAPARONE and S.P.CHUEN: Antibacterial antibodies in coliform urinary tract infections. Arch. Int. Med. 114, 222-227 (1964).

Die theoretischen und experimentellen Untersuchungen wurden 1965/1966 im Rahmen eines Promotionsstipendiums aus den Mitteln der Stiftung Volkswagenwerk durchgeführt. Für die Bewilligung dieses Stipendiums möchte ich der Senatskommission für die Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses meinen verbindlichsten Dank sagen.

Herrn Prof. Dr.med.,Dr.phil.,Dipl.-Chem. W.ZIMMERMANN danke ich herzlich für die Überlassung der Arbeit, sowie für die vielen Ratschläge und Anregungen während der Untersuchungen.

Weiterhin danke ich Herrn Prof.Dr.med. R.WIGAND vielmals für seine freundliche Unterstützung, Herrn Oberarzt Priv.Doz. Dr.med. L. BETTE und Herrn Dr.med. H.BLÄISE für die Entnahme von Blut aus prä- und postrenalen Gefäßbereichen durch direkte Sondierung, Herrn Oberarzt Priv.Doz. Dr.med. R.HUBMANN für das Auswählen von Fällen chronischer Pyelonephritis und Blutentnahmen.

Herrn Dr.med. P.BRÜHL bin ich sehr dankbar für die Einarbeitung in diesen speziellen Fragenkreis und sein stets hilfsbereites Interesse an dem Fortgang der Arbeit, und Herrn Dr.med. H.J.WELLENSIEK für die liebenswürdige Überlassung spezieller Aufarbeitungsmethoden.

Lebenslauf

22. 4. 1942	Geburt in Rostock/Mecklenburg als Sohn des Chemikers Dr. Walter Tunn und seiner Ehefrau Wilma, geb. Witt.
1949 - 1953	Besuch der Volksschulen in Lübeck; Ramlingen, Kreis Burgdorf (Hann.); Ehlershausen, Kreis Burgdorf (Hann.).
1953 - 1954	Besuch des altsprachlichen Gymnasiums Ernestinum in Celle.
1954 - 1962	Besuch des altsprachlichen Kaiser-Wilhelms Gymnasiums in Hannover.
1962 - 1967	Studium der Medizin an der Universität des Saarlandes in Saarbrücken und Homburg/Saar.
1963	Vorphysikum
1964	Physikum
1967	Staatsexamen